

В.М. Шейбак

**ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН, ВАЛИН:
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
РАЗРАБОТКИ НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Монография

Гродно
ГрГМУ
2014

УДК 577.112.382
ББК 28.072
Ш-39

Рекомендовано Редакционно-издательским советом УО «ГрГМУ»
(протокол № 7 от 15 мая 2014 г.)

Автор: В.М. Шейбак, д-р мед. наук, доц.

Рецензенты: Л.И. Нефедов, д-р мед. наук, проф., проф. каф. биохимии
ГГУ имени Янки Купалы;
В.В. Лелевич, д-р мед. наук, проф., зав. каф. биохимии
УО «ГрГМУ»;
М.И. Бушма, д-р мед. наук, проф., зав. каф.
фармакологии УО «ГрГМУ»;
Н.П. Канунникова, д-р биол. наук, проф. каф. технологии,
физиологии и гигиены питания ГГУ имени Янки Купалы.

Шейбак В.М.

Ш-39 Лейцин, изолейцин, валин: биохимические основы
разработки новых лекарственных средств : монография / В.М.
Шейбак. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 244 с.

ISBN 978-985-558-402-6.

Монография содержит анализ литературных источников и данных собственных исследований автора о метаболизме лейцина, изолейцина и валина (аминокислот с разветвленной углеродной цепью, АРУЦ) в тканях млекопитающих. Рассматриваются особенности метаболизма АРУЦ при различных патологических состояниях (сахарный диабет, инфекционные и токсические поражения печени, заболевания почек и сердца). Обсуждаются результаты метаболической терапии с использованием лекарственных средств, включающих лейцин, изолейцин и валин.

Издание предназначено для научных сотрудников, аспирантов, врачей, студентов биологических и медицинских специальностей и всех тех, кто интересуется проблемами использования аминокислот в качестве средств коррекции метаболического дисбаланса при различных патофизиологических состояниях.

**УДК 577.112.382
ББК 28.072**

ISBN 978-985-558-402-6

© Шейбак В.М., 2014
© УО «ГрГМУ», 2014

СОДЕРЖАНИЕ

СОКРАЩЕНИЯ	4
Введение.....	6
Глава 1 Физиологическое значение и метаболические функции лейцина, изолейцина и валина	11
Глава 2 Катаболизм аминокислот с разветвленной углеродной цепью	58
Глава 3 Центральные механизмы действия лейцина, изолейцина и валина	89
ГЛАВА 4 Аминокислоты с разветвленной углеродной цепью и патология печени	102
Глава 5 Ожирение и аминокислоты с разветвленной углеродной цепью	131
Глава 6 Лейцин, изолейцин, валин и сердечно-сосудистая система	139
Глава 7 Лейцин, изолейцин, валин и почки	147
Глава 8 Лейцин: особенности влияния на биосинтез белка при различных патофизиологических состояниях.....	163
Глава 9 Аминокислоты с разветвленной углеродной цепью как сигнальные молекулы	182
Глава 10 Лейцин, изолейцин, валин и иммунная система.....	189
Глава 11 Лекарственные средства, содержащие аминокислоты с разветвленной углеродной цепью	200
ЛИТЕРАТУРА.....	207

СОКРАЩЕНИЯ

ААК – ароматические аминокислоты
АРУЦ – аминокислоты с разветвленной углеродной цепью
ИЛ-1 – интерлейкин-1
ИЛ-2 – интерлейкин-2
ИЛ-4 – интерлейкин-4
ИНФ- γ – интерферон- γ
пиро-Глу – пироглутамат
ФГА – фитогемагглютинин
ФНО α – фактор некроза опухоли- α
4E-BP1 – связывающий белок-1 иницирующего фактора 4E
5'-UTR – транскрипты мРНК с высоко структурированными 5'-нетранслируемыми регионами
Arf – АДФ-рибозилирующий фактор
ASC – транспортер аланина, серина и цистеина
BCAT – аминотрансфераза аминокислот с разветвленной углеродной цепью;
BCATm – митохондриальная аминотрансфераза аминокислот с разветвленной углеродной цепью
BCKA – α -кетокислоты с разветвленной углеродной цепью
BCKDH – дегидрогеназный комплекс разветвленных α -кетокислот
EAAT – транспортер незаменимых аминокислот
eIF4E – иницирующий фактор 4E
DOPA – L-дигидроксифенилаланин
GCN2 – не-дерепрессируемая киназа-2
GGT – γ -глутамил-транспептидаза
HCV – хронический вирусный гепатит C
IGF-I – инсулиноподобный ростовой фактор-1
IRES – внутренние рибосомальные сайты
IRS-1 – инсулиновый рецептор-1
LKB1 – печеночная киназа B1
LNAA – транспортер больших нейтральных аминокислот
mTOR – мишень млекопитающих для рапамицина
mTORC1/2 – рецепторный комплекс млекопитающих, чувствительный к рапамицину 1/2
PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа

PKB/ Akt – протеинкиназа B

PP2C (PP2Cm) – митохондриальная серин/треонин фосфатаза

PPAR- α – пероксисомальный пролифератор-активируемый рецептором- α

PTEN – гомологи фосфатазы и тензина на 10-й хромосоме

S6K1 – рибосомальная S6 протеинкиназа 1

SIRT1 – сиртуин 1

TNFBP – ФНО α -связывающий белок

TOP – концевые олигопиримидин-содержащие участки

TSC1/2 – туберозис склерозис комплексы 1 и 2

VEGF – сосудистый эндотелиальный ростовой фактор

ВВЕДЕНИЕ

В катаболизме азота в организме важнейшее место занимают реакции, ответственные за выведение азотсодержащих продуктов метаболизма из организма (синтез мочевины, глутамина), серы (таурина, сульфанилпировиноградной кислоты) и окисления углеродных скелетов аминокислот до CO_2 и воды. Представления о внутриклеточном фонде свободных аминокислот, не входящих в состав белков, сложились в 50-х годах XX века и основывались на экспериментах с мечеными ^{15}N -аминокислотами. Введенный животным изотоп обнаруживался не только в составе белков, но и почти во всех свободных аминокислотах (кроме треонина и лизина). Эти результаты легли в основу положения о существовании лабильного аминокислотного пула, формирующегося за счет взаимопревращения свободных аминокислот, а также гидролиза белков и пептидов на разных этапах обмена веществ. Данная смесь экзогенно поступающих и эндогенно образующихся азотсодержащих метаболитов формирует основу многих метаболических путей. Показано, что в промежуточном обмене аминокислот, в процессах формирования их вне- и внутриклеточных пулов решающее значение принадлежит реакциям трансаминирования (в которых не участвует только лизин, треонин и α -аминогруппа аргинина) [1].

Важнейшим фактором, регулирующим метаболизм аминокислот в организме в целом и определяющим формирование тканевого аминокислотного пула, является распределение азотсодержащих метаболитов между органами (межорганный метаболизм). Метаболизм и реализация биологических функций аминокислот в разных органах и тканях имеют свою специфику, что может быть обеспечено прежде всего за счет контролируемого перераспределения этих соединений между внеклеточными средами, клетками и субклеточными структурами. Существуют групповые особенности переноса нейтральных, кислых, основных и серосодержащих аминокислот с наличием внутри каждой из этих групп подгрупп с индивидуальными особенностями транспорта [1]. В частности, печень усиленно экстрагирует аланин, глицин и валин. Глутамин интенсивно продуцируется в скелетных мышцах, а утилизируется

клетками иммунной системы и энтероцитами. Глицин активно используется почками, где одновременно нарабатываются большие количества серина и глутаминовой кислоты.

Эндогенные потери незаменимых аминокислот у человека (в основном вследствие их окисления) составляют около 80 мг/кг массы в сутки. В свою очередь, азотистое равновесие при неизменном метаболизме можно поддерживать при условии парентерального поступления не менее 4 г азота в сутки, а при необходимости ликвидации отрицательного азотистого баланса это количество увеличивается до 10-15 г/сутки [14]. Для достижения только заместительного эффекта искусственные смеси должны содержать не менее 19% незаменимых аминокислот. Присутствие в аминозолях лишь заменимых аминокислот приводит к отрицательному азотистому балансу. Увеличение доли незаменимых аминокислот более чем на 25% характерно для специализированных смесей, используемых для парентерального питания и выполняющих помимо питательной, регуляторную функцию.

Аминокислотный дисбаланс является одним из самых характерных признаков большого числа заболеваний и токсических воздействий на организм животных и человека. В связи с этим исследование закономерностей формирования фонда свободных аминокислот в условиях метаболического дисбаланса является актуальным [4а, 8б, 8в].

Свободные аминокислоты и их производные являются одними из наиболее универсальных природных регуляторов и эндогенных модификаторов биологических реакций, поскольку их уровни являются важнейшими регулирующими факторами процессов биосинтеза белка и высокоактивных биологических субстанций (медиаторы, гормоны), активности основных метаболических потоков и функционального состояния органов и систем [8а].

На сегодняшний день существует более чем достаточно доказательств в пользу того, что аминокислоты относятся к соединениям, на основе которых уже созданы и продолжают разрабатываться эффективные лекарственные препараты направленного метаболического действия [6]. Подавляющее большинство современных технологий производства свободных

аминокислот разработаны в Японии и Китае, а само производство лекарственных форм на их основе сконцентрировано в Германии, Финляндии, Японии, Швеции и США, где, по мнению экспертов в области фарминдустрии, в последние годы происходит “аминокислотная революция”.

В настоящее время отдельные аминокислоты и их комбинации широко используются не только с заместительной целью, но и для целенаправленной метаболической коррекции. Регуляторные функции аминокислот и их производных являются следствием химической полифункциональности этих соединений. Аминокислотные добавки повышают устойчивость организма к действию экстремальных факторов внешней среды (адаптогенное действие), которое проявляется в регуляции активности ферментов антиоксидантной защиты, прямом связывании свободных радикалов и стабилизацией биологических мембран.

Доказано, что большинство аминокислот при введении их в организм в более высоких количествах, чем они поступают с пищей, вызывают определенные специфические (фармакологические) эффекты, включающие активацию окислительно-восстановительных реакций, энергетического обмена, обезвреживания ксенобиотиков. В первую очередь это относится к препаратам на основе отдельных аминокислот (метионин, глицин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, таурин, лейцин), а также к их смесям или комплексам с витаминами и микроэлементами (глутамевит, аспаркам, панангин), которые активируют обменные процессы и применяются при заболеваниях гепатобилиарной, сердечно-сосудистой или нервной систем, а также при разного рода интоксикациях, в том числе – алкогольной.

Важное место в обмене веществ занимают АРУЦ, составляющие до 60% от всех циркулирующих аминокислот и среди которых особая роль принадлежит лейцину. В отличие от изолейцина и валина, эта аминокислота регулирует биосинтез и катаболизм белка в скелетных мышцах, оказывает выраженное гепатопротекторное и иммуномодулирующее действие.

Следует отметить, что, несмотря на широкое использование отдельных аминокислот или их композиций с целью восполнения их дефицита, прямые фармакологические эффекты метаболитной

терапии, а также регуляторное воздействие данных соединений на обмен веществ слабо изучено.

Под регуляцией, вероятно, следует понимать воздействие свободных аминокислот на метаболические процессы и жизненно важные функции, которое проявляется при их естественных или близких к эндогенным концентрациям в биологических средах и тканях. Подобный подход позволяет реализовать свойства аминокислот как эндогенных регуляторов при проведении направленной метаболической коррекции и разрабатывать на их основе новые эффективные лекарственные средства.

АРУЦ являются физиологически и биохимически уникальными для макроорганизма соединениями по сравнению с другими аминокислотами. АРУЦ относятся к незаменимым для млекопитающих аминокислотам и в значительном количестве входят в состав белков. Хотя они – незаменимый компонент пищи, тем не менее они не метаболизируются в печени, как это имеет место для остальных протеиногенных аминокислот. Основной катаболизм данных аминокислот происходит во внепеченочных тканях, главным образом в скелетных мышцах. Скелетные мышцы составляют до 40% массы организма, поэтому, несмотря на относительно невысокую активность АРУЦ трансаминазы в скелетных мышцах, их способность к дезаминированию этой группы аминокислот, вероятно, наиболее значима [16].

АРУЦ могут использоваться животными в качестве источника энергии. Лейцин является также сильным стимулятором секреции инсулина и одновременно усиливает анаболическое действие гормона. АРУЦ, особенно лейцин, активируют биосинтез белка и ингибируют протеолиз как *in vivo*, так и *in vitro*. Однако механизм подобного влияния АРУЦ остается малоизученным. Известно, что лейцин стимулирует протеинкиназу – мишень млекопитающих для рапамицина (mTOR), которая является начальным регулятором рибосомальной S6 протеинкиназы 1 и 4E-BP1 (eIF4E связывающего белка 1), что инициирует стимуляцию всей молекулярной «машины», осуществляющей биосинтез белка [387].

Дополнительное введение АРУЦ, являясь источником энергии и, возможно, обеспечивая стимуляцию биосинтеза белков в печени, включая продукцию альбумина и фактора роста гепатоцитов, предупреждает прогрессирование цирроза печени. Т.Е.Fischer предложил широко используемый гепатологами коэффициент АРУЦ/тирозин и АРУЦ/фенилаланин, исходя из их концентраций в плазме, особенно полезный для оценки состояния и прогноза у пациентов с острой печеночной энцефалопатией, хотя точный механизм этих изменений до сих пор точно не известен.

Интерес исследователей к метаболическим превращениям и возможностям практического использования лейцина, изолейцина и валина реализуется в создании достаточно широкого спектра лекарственных средств, показаниями к применению которых являются известные в настоящее время метаболические и фармакологические эффекты данных аминокислот.

ГЛАВА 1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА

Аминокислоты выполняют множество функций в организме, от субстратов для биосинтеза белков, до предшественников глюкозы и участия в синтезе мочевины. Аминокислоты и их метаболиты участвуют в регуляции синтеза фосфолипидов, гликогена, а также процессов деградации белковых молекул. Циркулирующие в плазме крови аминокислоты в основном классифицируются по способности образовывать глюкозу или кетонные тела (гликогенные или кетогенные), а также наличию ферментов для их синтеза в тканях млекопитающих (заменимые или незаменимые). Метаболизм аминокислот непосредственно контролируется процессами, происходящими главным образом, в митохондриях. Кроме того, аминокислоты участвуют в регуляции и реализации клеточных функций. Аминокислоты являются ключевыми молекулами (нутриентами), необходимыми для роста клеток, их жизнеспособности и нормального функционирования. В дополнение к использованию в биосинтезе белка, многие аминокислоты являются незаменимыми ингредиентами для синтеза многих молекул, являясь поставщиками азота или углерода [262]. Некоторые аминокислоты, включая АРУЦ (лейцин, изолейцин, валин), обладают сигнальными функциями в клетке [38, 248, 262, 321, 330, 363, 391]. В дополнение к широкому включению в белки и пептиды, в которых АРУЦ являются ключевыми гидрофобными аминокислотами, эти кетогенные соединения также используются клетками для синтеза стероидов, кетонных тел, глюкозы [42]. В организме млекопитающих L-лейцин практически не синтезируется, исключая незначительное образование из соответствующей α -кетокислоты. Суточная норма лейцина для человека (1,1-1,2 г) обеспечивается его поступлением в составе белковых пищевых продуктов растительного и животного происхождения. Содержание его в сывороточных альбуминах человека составляет 11-12%, в овальбумине – 9,2%, γ -глобулинах – 9,3%, фибрине

человека – 7,1%, β -лактоглобулине – 15,5%, гемоглобине – 15-16%, миоглобине – 16-18%, пепсине – 10,4%, лизоциме – 6,9%. В плазме крови человека в норме содержится около 2 мг/% L-лейцина, а в зависимости от состава пищи, с мочой его суточная экскреция составляет около 14 мг. Он хорошо всасывается при пероральном назначении, проникает через гематоэнцефалический барьер и быстро включается в белки. Именно по включению ^{14}C -лейцина определяют скорость синтеза белка *in vivo*. Среди АРУЦ именно лейцин обладает особо выраженной способностью стимулировать биосинтез белка, клеточный метаболизм и рост клетки, воздействуя на сигнальный путь с участием mTOR [84, 292, 338].

АРУЦ не синтезируются в организме, но легко образуются в условиях, обозначаемых как пребиотический органический синтез. Они играют важнейшую роль в формировании структуры белковой молекулы (фолдинг). Большинство белков тканей млекопитающих содержат большое количество этих аминокислот, в связи с чем АРУЦ составляют до 35% от общей потребности млекопитающих в незаменимых аминокислотах.

Лейцин, изолейцин, валин являются наиболее гидрофобными из 20 аминокислот, представленных в структуре белковой молекулы [19]. Гидрофобность – основное их свойство, основная детерминанта их присутствия в глобулярных и мембранных белках, а также разного рода пептидных «хвостовых» структурах. Внутреннюю часть (ядро) водорастворимых глобулярных белков образуют в основном гидрофобные аминокислоты, главным образом лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин и метионин. Это обеспечивает не только специфический фолдинг белковой молекулы, но и создание нативной структуры, определяющей функционирование некоторых глобулярных белков. Так, например, гидрофобные остатки формируют гидрофобное окружение, необходимое для связывания кислорода в миоглобине и гемоглобине, а также для взаимодействия субстрата с ферментом. Более того, некоторые глобулярные белки являются липидорастворимыми. Например, протеин В легочного сурфактанта взаимодействует с окружающими его фосфолипидами и относится к одному из наиболее гидрофобных белков. АРУЦ в нем составляют до 37%

(17,7% лейцин, 11,4% валин, 7,6% изолейцин). Доминирующей структурой этого белка являются амфипатические спирали, в которых остатки АРУЦ взаимодействуют с ацильными цепями липидов, и, возможно, положительно заряженные группы взаимодействуют с головками фосфолипидов [158]. Мембранным белкам гидрофобные аминокислоты необходимы для создания трансмембранных доменов, взаимодействующих с гидрокарбонowymi цепями жирных кислот. Например, гликофорин, белок мембраны эритроцитов, содержит 11 представителей АРУЦ из 19 аминокислотных остатков пептидной петли, которая пересекает мембрану [67].

Другой важной ролью лейцина и его гидрофобных аналогов является создание концевых спиралей в таких белках как миозин, фибриноген, кератин, и ряд факторов транскрипции. Каждый полипептид в этом случае содержит ряд повторяющихся последовательностей, где в четвертой позиции чаще всего обнаруживается лейцин, а другая гидрофобная аминокислота – в первой позиции [158].

Несмотря на однотипность структуры, все три АРУЦ играют разную роль в белках. Боковые цепи данных аминокислот различаются по размеру и гидрофобности. Следовательно, они по-разному ведут себя во вторичной структуре белковой молекулы. Лейцин чаще встречается в спиралевидных структурах, чем при β -складчатости, тогда как изолейцин и валин – наоборот. Эти различия указывают на ключевую роль лейцина в создании спиралевидных структур. В то же время мутационные замены среди АРУЦ в целом являются консервативными, хотя известно, что такие замены могут оказывать существенное влияние на фолдинг и функцию белков. Очевидно, что химическая природа АРУЦ позволяет им выполнять определенные функции в структуре белка, помимо известных метаболических функций. Так, замена изолейцина на валин (V122I) в транстиретине приводит к кардиомиопатии, характеризующейся отложением амилоида в миокарде [158]. Замена валина на лейцин (L162V) в рецепторах, активирующихся под действием пролифератора пероксисом приводит к изменениям липидного профиля, тогда как замена лейцина на валин (V836L) во внеклеточном кальциевом рецепторе белка

ТМ6/ТМ7 приводит к аутосомной доминантной гипокальцийурии [158].

Азотистый баланс характеризует анаболическое или катаболическое состояние белкового обмена в организме. Азотистый баланс хорошо отражает и полноценность потребляемых белков или смесей аминокислот. Однако измерение азотистого баланса достаточно трудоемко и требует времени. Для метаболизма АРУЦ характерно несколько общих моментов: 1) катаболизм всех трех аминокислот контролируется на общей стадии окисления; 2) их катаболическое распределение происходит в основном в скелетных мышцах; 3) циркулирующие концентрации АРУЦ могут влиять на потребление аминокислот-предшественников для синтеза нейротрансмиттеров; 4) они могут регулировать биосинтез белка в разных тканях. Несмотря на универсальные, даже уникальные характеристики, все же остается очевидным, что основная их функция – структурная [67].

АРУЦ переносятся через плазматические мембраны общими транспортными белками, имеют общие ферменты, осуществляющие трансаминирование и окислительное декарбоксилирование. Очевидно, что их метаболическая судьба тесно связана. АРУЦ составляют 35-40% незаменимых аминокислот в пищевых белках и 14-18% общего количества аминокислот в мышечных белках [225, 331]. Мышечная масса человека составляет около 40% от массы тела, следовательно, пул мышечных белков является самым большим резервуаром АРУЦ в организме. С другой стороны, животные обладают пулом свободных аминокислот, который, по-видимому, является величиной постоянной, а содержание свободных АРУЦ в скелетных мышцах составляет только около 0,6-1,2 ммоль/кг) [16, 331]. Этот пул свободных АРУЦ чрезвычайно мал по сравнению с содержанием АРУЦ в мышечных белках. Общая концентрация АРУЦ в крови человека (0,3-0,4 мМ) относительно высока по сравнению с другими аминокислотами (за исключением глутамина). Однако количество АРУЦ в крови человека очень мало по сравнению с их содержанием в мышечных белках.

В дополнение к существующим источникам азота для заменимых аминокислот, трансаминирование АРУЦ с глутаматом и кетоглутаратом играет ключевую роль в перераспределении азота среди различных заменимых аминокислот, а также для «сброса» азота в направлении синтеза мочевины. Данные, полученные в разных возрастных категориях, особенно при потреблении низкобелкового рациона, показали лимитирующую роль заменимых аминокислот для роста и обеспечения азотом процесса синтеза мочевины, а также наличие обратного захвата азота при гидролизе мочевины в желудочно-кишечном тракте [328]. Активность митохондриальной АРУЦ трансаминазы изменяется в процессе онтогенеза, что позволяет осуществлять перераспределение азота и регулировать соотношение анаболических и катаболических процессов.

Помимо того, что аминокислоты используются в синтезе белка, они также являются источниками энергии для скелетных мышц. Например, АРУЦ трансаминируются в мышцах в соответствующие кетокислоты, которые затем утилизируются в реакциях глюконеогенеза в печени. При умеренной физической нагрузке пул АРУЦ сохраняется на постоянном уровне, несмотря на активацию процессов распада белка. Однако при тяжелой и длительной физической нагрузке окисление АРУЦ в скелетных мышцах часто превышает их высвобождение из мышечных белков. В результате концентрация АРУЦ в крови падает, что способствует транспорту триптофана в ЦНС и повышению образования серотонина в мозге [57]. Одним из последствий этого эффекта может быть развитие усталости центрального происхождения. В этом отношении интересно, что потребление раствора АРУЦ крысами блокирует увеличение концентрации серотонина при физической нагрузке [358].

Другая аминокислота, аргинин, может также выполнять полезные функции при физической нагрузке. Ее потребление способствует секреции гормонов, необходимых для адекватного метаболического ответа [243, 389], а также облегчает удаление аммиака в цикле мочевины, что уменьшает периферическую усталость, связанную с физической нагрузкой. С другой стороны, физическую выносливость повышают также производное аргинина, оксид азота, сильный эндогенный вазодилататор [341].

Сложности интерпретации колебаний концентраций АРУЦ в плазме крови обусловлены тем, что они могут повышаться при увеличении протеолиза, что, однако, не обязательно является отрицательным моментом. С другой стороны, содержание АРУЦ может также снижаться под действием различных факторов, что не всегда указывает на их дефицит. Другой проблемой интерпретации является то, что обычно АРУЦ определяют в периферической венозной крови. Профиль свободных аминокислот в венозной крови может отличаться от такового в артериальной. Это также накладывает отпечаток на интерпретацию полученных данных. Уровни аминокислот в плазме и в цельной крови далеко не всегда одинаковы. Уровень аминокислот в цельной крови отражает как их содержание в плазме, так и в клетках крови. Например, обнаружено, что концентрации некоторых аминокислот, таких как аспартат, в семь раз выше в цельной крови, чем в плазме. Это связано с тем, что некоторые аминокислоты сконцентрированы в эритроцитах, их количество может существенно изменяться, особенно при физической или пищевой нагрузках. Метаболическую функцию АРУЦ определяют в большей степени внутриклеточные концентрации, а не их уровни в плазме. Следовательно, содержание в плазме крови лишь отчасти может быть характеристикой избытка или дефицита АРУЦ.

АРУЦ, как и другие незаменимые аминокислоты, подвергаются ацилированию транспортными РНК для синтеза белка или катаболизируются. Процесс катаболизма АРУЦ в организме млекопитающих уникален. Основные регуляторные стадии катаболизма АРУЦ, наиболее интенсивно протекающие во время голодания, сосредоточены главным образом в периферических тканях (в основном в скелетных мышцах), тогда как в печени, где наиболее активно проходят процессы трансаминирования, окислительного декарбоксилирования и дегидрирования, осуществляется окончательная деградация АРУЦ, а углеродные скелеты бывших аминокислот и кетокислот используются в ЦТК [16].

Метаболиты лейцина (ацетоацетат и ацетил-КоА) являются кетогенными, тогда как валина (сукцинил-КоА) – глюкогенными. Метаболиты изолейцина (ацетил-КоА и сукцинил-КоА) являются

кетогенными и глюкогенными. Сукцинил-КоА является также предшественником в синтезе порфиринов. Когда уровень лейцина падает ниже физиологического, ингибируется дегидрогеназа разветвленных кетокислот. Напротив, избыток лейцина может активировать этот ферментативный комплекс. Некоторые факторы, особенно изменения физиологического статуса, гормоны и различные субстраты, способны влиять на скорость окисления АРУЦ.

Исследования *in vitro* показали, что лейцин может стимулировать этап трансляции биосинтеза белка и специфический синтез белка в мышцах. В большинстве исследований *in vivo* показано, что инфузия смеси АРУЦ добровольцам приводила к снижению распада белка при небольшом или даже полном отсутствии влияния на синтез белка в организме, если не вводили дополнительно смесь других незаменимых аминокислот. Экзогенное введение АРУЦ может изменять уровни других аминокислот, уменьшая их отток из мышц вследствие ингибирования распада белка (при отсутствии стимуляции инсулином). Поступление в организм избытка лейцина снижает концентрации родственных аминокислот – валина и изолейцина, что может нарушать биосинтез белка в тканях [16,19].

При отсутствии пищи в течение нескольких суток в качестве основного источника энергии для клеток мозга используется глюкоза. Гликоген печени является источником глюкозы крови в первые 10-18 ч, а затем активируется глюконеогенез. Протеолиз позволяет получать свободные аминокислоты, которые используются в печени для глюконеогенеза (наиболее значимые среди которых – аланин и глутамин). Таким образом, кратковременное голодание (1-3 дня) приводит к стимуляции протеолиза и окисления лейцина. Уровни АРУЦ в плазме крови повышаются при голодании параллельно с увеличением скорости распада белка. Однако уже через несколько недель после начала голодания скорость протеолиза мышечных белков резко снижается, поскольку уменьшается значение глюкозы как источника энергии для мозга. В качестве основного источника энергии мозг начинает потреблять кетоновые тела. В результате уровень АРУЦ также падает. Показано, что введение β-

гидроксibuтирата способствует активации биосинтеза белка в мышцах, хотя как именно кетоновые тела стимулируют биосинтез белка, – остается неясным. Для полноценного катаболизма АРУЦ необходимы витамин В₆, тиамин, рибофлавин, липоевая кислота, недостаточность которых при длительном голодании также может тормозить окислительный метаболизм АРУЦ [16, 27].

Инфузия аминокислот способствует биосинтезу белка в скелетных мышцах и внутренних органах, одновременно ингибирует распад белка в скелетных мышцах. Избыток потребления АРУЦ увеличивает концентрации этих аминокислот в плазме, которые в большем количестве окисляются с образованием аммиака. Эффекты введения других макронутриентов на уровень АРУЦ менее предсказуемы и зависят от текущего физиологического состояния. Инфузия липидов оказывает гипоаминоацидемический эффект при голодании, но последующая эугликемическая и гипергликемическая гиперинсулинемия не влияет на концентрацию аминокислот. Длинноцепочечные жирные кислоты *in vitro* и *in vivo* оказывают белок-сберегающий эффект. Поступление их в организм ингибирует эндогенный распад белка и может подавлять окисление лейцина в организме, но не влияет на синтез белка. Введение среднецепочечных жирных кислот повышает окисление лейцина, но не других аминокислот.

Нутритивный статус является важным для физиологии поджелудочной железы, функция которой модулируется рядом пищевых факторов, включая изменения таких пищевых компонентов, как белки, жиры и углеводы. Кормление высокобелковой пищей ведет к гипертрофии поджелудочной железы и повышению содержания протеолитических ферментов. Эти эффекты могут быть следствием повышенного поступления в кровотоки АРУЦ в результате деградации пищевых белков. Белки сыворотки и казеин, основываясь на потребности в них человека, возможности гидролиза в желудочно-кишечном тракте и биодоступности входящих в их состав аминокислот, классифицируются как высококачественные белки. Они содержат относительно высокую пропорцию незаменимых аминокислот по сравнению с другими белками. Среди других незаменимых

аминокислот, казеин содержит большее количество гистидина, метионина, фенилаланина и валина, чем белки сыворотки. Кроме того, казеин также содержит более высокий процент некоторых заменимых аминокислот, включая аргинин, глутамат, пролин, серин и тирозин.

Одновременно белки сыворотки абсорбируются быстрее, чем казеин. Более низкая скорость абсорбции казеина в его нативной мицеллярной форме связана с низким рН в желудке, поскольку казеин сворачивается и становится труднодоступным. Следовательно, уровни аминокислот в плазме быстро повышаются после потребления сывороточных белков, в то время как изменения аминокислот плазмы менее значительные, но более продолжительные после потребления мицеллярного казеина. Гидролиз сывороточных белков или казеина может существенно влиять на абсорбцию и последующий профиль аминокислот в плазме. Гидролизат казеина более быстро, чем интактный мицеллярный казеин, вызывает существенное увеличение пула свободных аминокислот плазмы [71].

Степень повышения секреции инсулина зависит как от состава, так и от концентрации свободных аминокислот в плазме, следовательно, потребление сывороточных белков и казеина будет по-разному влиять на высвобождение гормона. Потребление сывороточного белка ведет к более активной секреции инсулина, чем при потреблении мицеллярного казеина, однако предварительный гидролиз казеина ускоряет абсорбцию аминокислот и секрецию инсулина относительно мицеллярной формы казеина.

Инсулин оказывает многообразные эффекты на метаболизм липидов и белков, включая стимуляцию потребления клетками глюкозы, синтез гликогена, триглицеридов, биосинтез белка и тормозит протеолиз, липолиз и глюконеогенез. Следовательно, стимуляция секреции инсулина различными белками пищи вносит существенный вклад в метаболизм инсулин-чувствительных тканей, и особенно анаболизм в скелетных мышцах. Длительное увеличение уровня глюкозы натошак является ключевым фактором метаболического риска, одной из основных характеристик инсулиннезависимого диабета, и связана с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Гипергликемия развивается параллельно с увеличением резистентности к инсулину и нарушением секреции инсулина [46].

Клетки тканей отвечают на колебания доступности аминокислот путем изменения внутриклеточного метаболизма, секрецией регуляторных молекул и модуляцией активности метаболических путей, которые регулируются основными метаболитическими факторами – инсулином, глюкагоном, инсулиноподобным ростовым фактором 1 (IGF-I). Известно, что инсулин, гормон роста, глюкокортикоиды, инсулиноподобный фактор-1, тиреоидные гормоны и другие гормоны регулируют белковый обмен. Мышца, как наибольший орган организма, имеет суммарную массу примерно 28 кг у среднего (70 кг) человека, содержит около 20% белка и вносит основной вклад в динамику белкового обмена в организме [234].

Ключевые гормоны, которые регулируют уровень глюкозы в крови, в частности, инсулин и глюкагон, оказывают выраженное влияние и на концентрации АРУЦ. Инфузия инсулина снижает содержание АРУЦ в плазме. Анаболический эффект инсулина проявляется в основном в скелетной мышце, где он ингибирует распад белка, влияет на индуцированный аминокислотами биосинтез белка, снижает степень трансаминирования лейцина. Одновременное введение инсулина и смеси аминокислот ведет к подавлению протеолиза и стимуляции биосинтеза белка. Инсулин снижает трансаминирование лейцина (важный процесс для переноса азота в разные органы), но в то же время стимулируется окисление кетоизокапроновой кислоты [281].

Аминокислоты, и особенно лейцин, при введении совместно с углеводами действуют в качестве сильного инсулиногенного фактора. Изменение концентраций отдельных АРУЦ в разной степени влияет на секрецию инсулина. Лейцин и изолейцин стимулируют высвобождение инсулина, тогда как валин оказывает незначительный эффект на выброс гормона [241]. При этом стимулирующий эффект лейцина и изолейцина на секрецию инсулина менее выражен у взрослых и пожилых лиц, чем у молодых. Введение лейцина может существенно улучшать постабсорбционный гликемический контроль. Кроме того,

аминокислоты инсулин-независимым образом влияют на трансляцию мРНК, повышая биосинтез белка и стимулируя его накопление в организме. Эти анаболические эффекты аминокислот в основном присущи незаменимым аминокислотам, в особенности лейцину. Лейцин предлагается в качестве самостоятельного фармаконутриента для предупреждения и лечения саркопении и/или инсулиннезависимого сахарного диабета [239].

В покое кровоток в скелетных мышцах достаточно медленный (3-4 мл/мин/100 г) по сравнению с такими тканями, как печень, почки, мозг и сердце, которые имеют базальный кровоток в 20-40 раз выше. Однако скелетные мышцы обладают способностью быстро повышать кровоток (при интенсивной физической нагрузке до 20 раз) [31]. Доказано, что в этом процессе могут также участвовать инсулин, IGF-I и гормон роста, что, в свою очередь, вносит определенный вклад в общую активацию метаболических процессов, в частности, в стимуляцию биосинтеза белка.

Инсулин и IGF-I, вероятно, непосредственно действуют на эндотелиальные клетки, которые обладают гибридными рецепторами к инсулину и IGF-I [234]. Гибридные рецепторы имеют одну β -субъединицу от инсулинового рецептора, сопряженную с субъединицей рецептора к IGF-I [234]. В свою очередь каждый из этих гормонов может повышать скорость продукции вазодилататора оксида азота. Механизм действия обоих гормонов заключается в повышении фосфорилирования синтазы оксида азота (NOS) протеинкиназой B (Akt) [417]. Эта киназа может непосредственно фосфорилировать специфические сериновые остатки (Ser1179) NOS, повышая кальций-независимым образом ее активность.

Используя подходы метаболомики, показано, что наиболее сильно коррелирует с чувствительностью к инсулину содержание АРУЦ, количество ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин), короткоцепочечных ацилкарнитинов, суммарный уровень глутамин и глутамата, а также содержание аланина. Последующие исследования также показали связь нарушения метаболизма АРУЦ с метаболическим синдромом и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Доказано, что уровень АРУЦ в

плазме является предиктором развития и прогрессирования ожирения и диабета 2 типа [293].

Избыточное потребление АРУЦ и липидов с пищей может оказывать влияние на функционирование β -клеток. Жирные кислоты являются стимуляторами секреции инсулина и в дополнение к глюкоза-индуцируемой секреции инсулина высвобождают мессенджеры, активно продуцируемые при метаболизме липидов и способствующие активации мембранных рецепторов, сопряженных с G-белками. В свою очередь β -клетки островков Лангерганса обладают способностью активно метаболизировать мембранные фосфолипиды, что необходимо для сопряжения процесса стимуляция→секреция.

Аминокислоты оказывают комплексное воздействие на β -клетки. В частности, глутамат совместно с лейцином являются сильными стимуляторами секреции инсулина. Доказано, что они оба участвуют в ее регуляции. Секреция инсулина может повышаться вследствие аллостерической активации глутаматдегидрогеназы лейцином, а точечные мутации глутаматдегидрогеназы являются причиной семейных типов гиперинсулинемии. У лиц с ожирением и инсулинорезистентностью наблюдается повышенный уровень АРУЦ и глутамата, а также усилена секреция инсулина в ответ на нагрузку глюкозой при проведении глюкозотолерантного теста (через 10 мин.). Очевидно, что хроническое повышение концентрации АРУЦ и их метаболитов может приводить к метаболическому давлению на β -клетки и являться причиной их последующей дисфункции.

АРУЦ участвуют в регуляции трансляции определенных типов белков, характеризующихся присутствием олигопиримидиновых участков на 5'-конце (обозначаемых как TOP), которые в свою очередь участвуют в трансляции рибосомальных белков и факторов трансляции. По этому сценарию аминокислоты должны «праймировать» трансляционную машину поджелудочной железы в биосинтезе белка, но, очевидно, что необходимы дополнительные гормональные и/или холинергические стимулы для более эффективной стимуляции синтеза белка, который включает также стадию элонгации. С другой стороны, не исключено, что

введение отдельных аминокислот может способствовать развитию дисбаланса в аминокислотном фонде поджелудочной железы, который ограничивает доступность субстратов для синтеза новых белков. Так, показано, что однократное введение АРУЦ снижало в плазме концентрации других незаменимых аминокислот, а это может уменьшать доступность свободных аминокислот для панкреатического пула [32, 204].

Лейцин стимулирует продукцию инсулина β -клетками, что ведет к повышению уровня гормона в плазме и способствует повышению биосинтеза белка в скелетной мышце. Инсулин может активировать этап трансляции в различных тканях, включая поджелудочную железу. Повышение фосфорилирования 4E-BP1 и S6K, наблюдаемое после внутрижелудочного введения лейцина, также может быть результатом повышения уровня инсулина в плазме. В скелетной мышце и жировой ткани лейцин способен стимулировать общий биосинтез белка, не изменяя фосфорилирования факторов трансляции в отсутствие инсулина, но при этом в печени и поджелудочной железе синтез белка не изменяется [46].

Добавки лейцина в рацион улучшают синтез белка в мышцах у пожилых лиц, независимо от повышения содержания остальных аминокислот [334]. Поскольку лейцин стимулирует секрецию инсулина, увеличение скорости биосинтеза белка в мышцах может быть результатом увеличения уровня инсулина в плазме. В целом очевидно, что лейцин активирует биосинтез белка как инсулин-зависимым механизмом, так и инсулин-независимым (рис.1). Однако наибольшее физиологическое значение имеет то, что повышение наработки белка в мышцах, наблюдаемое после добавок лейцина, оптимально после потребления полноценной пищи (т.е. содержащей белки, углеводы и липиды). Эффект рациона обычно продолжается по меньшей мере 5 ч, что, по-видимому, происходит без существенного увеличения постабсорбционного уровня остальных аминокислот. Добавки лейцина эффективно предупреждают (ограничивают) потери белка при старении, что может быть хорошей альтернативой высокобелковому рациону, который нарушает функцию почек у пожилых лиц [112].

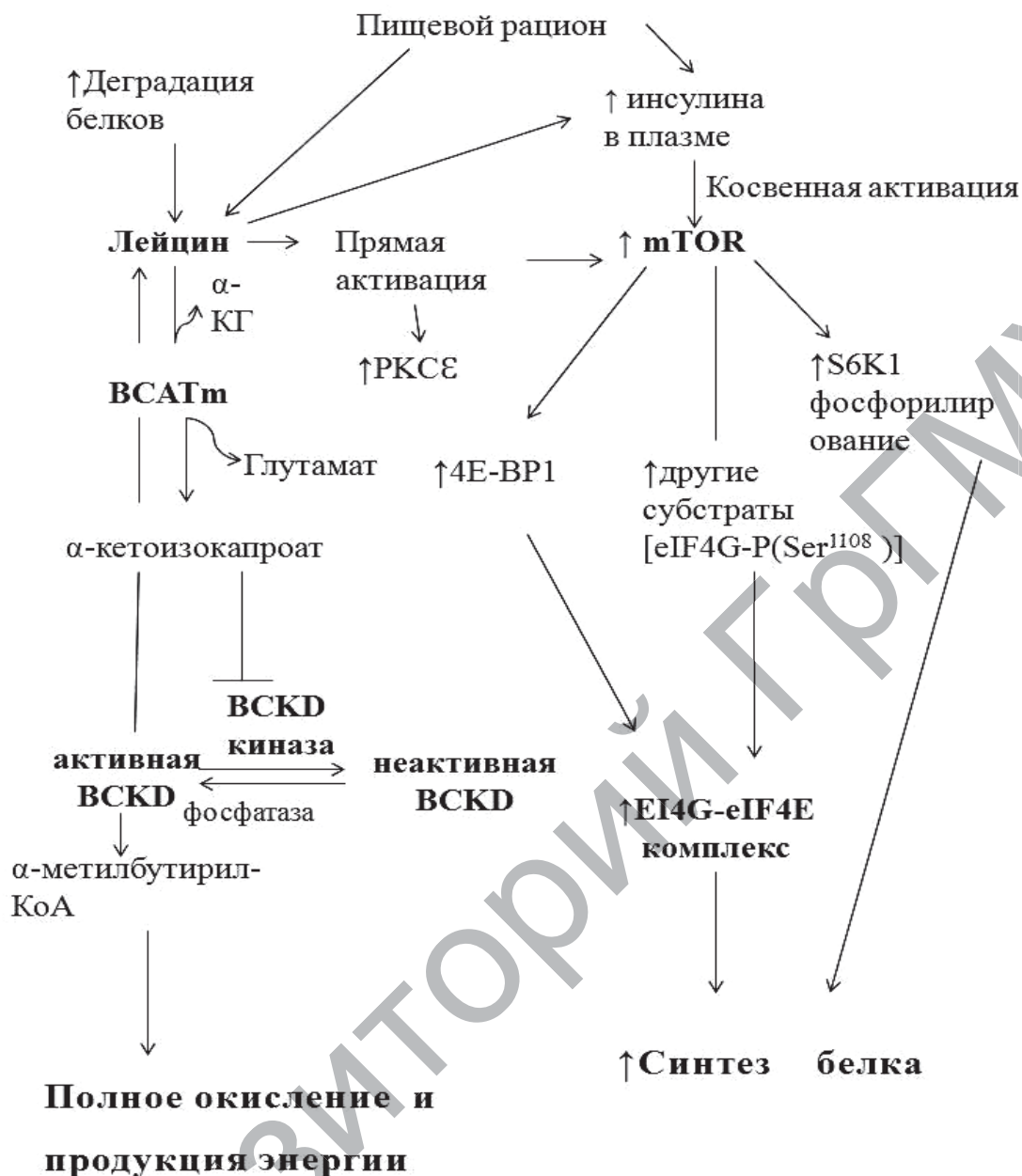


Рисунок 1 – Активация лейцином сигнального пути с участием mTOR (Vary T.C., Lynch C.J., 2007)

В то время как трансаминирование АРУЦ происходит в основном во внепеченочных тканях, печень является основным местом окисления разветвленных кетокислот. Показано, что активность и экспрессия киназы дегидрогеназы разветвленных кетокислот, подверженная нутритивному контролю, изменяется при голодании и диабете. Некоторые гормоны, особенно инсулин, глюкокортикоиды, тиреоидные гормоны и женские половые гормоны в наибольшей степени влияют на экспрессию и

активность киназы. Инактивация дегидрогеназного комплекса благоприятствует сохранению АРУЦ с последующим их использованием для биосинтеза белка, тогда как активация ферментативного комплекса способствует стимуляции глюконеогенеза. При употреблении стандартного рациона фермент обычно находится в активном состоянии. Ограничение потребления белка повышает экспрессию киназы дегидрогеназы разветвленных кетокислот, что ведет к увеличению содержания фосфорилированной формы комплекса и сохранению содержания незаменимых АРУЦ. Избыток белка в рационе, напротив, сопровождается минимальным фосфорилированием комплекса.

Белковая пища повышает в скелетных мышцах и сердце образование активного комплекса eIF4G-eIF4E. Увеличение образования активного комплекса eIF4G-eIF4E ассоциируется с заметным увеличением уровня фосфорилирования eIF4G (Ser1108) и уменьшением количества неактивного комплекса 4E-BP1-eIF4E. Киназой, осуществляющей фосфорилирование S6K1 и 4E-BP1, вероятно, является mTOR-ассоциированная Ser/Thr киназа, которая также подвергается активации путем механизма фосфорилирования/дефосфорилирования. Белковая пища повышает степень фосфорилирования mTOR на сайтах Ser2448 или Ser2481. Уровень фосфорилирования протеинкиназы B (PKB) (по Thr308 или Ser473) ассоциируется с повышением активности PKB. Фосфорилирование PKB способствует фосфорилированию mTOR по Thr308, которое повышается через полчаса после приема белковой пищи, тогда как фосфорилирование Ser473 увеличивается только через 1 час. Следовательно, прием белковой пищи стимулирует два сигнальных пути в скелетных мышцах, активацию комплекса eIF4G-eIF4E путем повышенного фосфорилирования eIF4G и снижение ассоциации 4E-BP1 с eIF4E.

Таким образом, пищевое потребление лейцина может регулировать его распределение между биосинтезом белка и окислительным метаболизмом в митохондриях.

Гуморальные факторы, секретируемые при стрессе, остром или хроническом воспалении, оказывают сильное влияние на метаболизм белка в организме. Глюкагон, глюкокортикоиды и катехоламины, секретируемые в стресс-ситуациях и

определяющие катаболическую направленность обмена веществ, стимулируют протеолиз мышечных белков. Хотя гиперглюкагонемия не влияет на распад или синтез белка в организме, в артериальной крови концентрации многих аминокислот (но не АРУЦ) достоверно снижены.

Глюкагон повышает окисление лейцина [111] при небольшом увеличении общего кругооборота лейцина. В свою очередь назначение АРУЦ в незначительной степени стимулирует секрецию глюкагона, в отличие от эффектов других аминокислот, таких как аланин, аргинин и т.д. Более того, лейцин и изолейцин могут *in vitro* ингибировать выброс глюкагона α -клетками.

Катаболические состояния характеризуются повышенным потреблением энергии, отрицательным азотистым балансом, повышенной утилизацией глутамина, дисрегуляцией метаболизма аминокислот. При стрессе повышается и интестинальная абсорбция АРУЦ. Введение больших доз глюкокортикоидов стимулирует катаболизм, усиливая распад белков в скелетных мышцах и подавляя биосинтез белка. У человека, однако, однократное введение небольших доз преднизолона не влияет на метаболизм белка в организме и, в частности, в скелетной мышце [356].

Хотя действие адреналина и норадреналина часто связывают с катаболическими процессами, такими как стимуляция липолиза или гликогенолиза (через β -адренергический механизм увеличения внутриклеточного цАМФ), катехоламины могут оказывать и анаболический эффект на метаболизм белка в мышцах [290].

При катаболических состояниях кортизол, катехоламины и глюкагон (секреция которых, например, активируется уже в течение нескольких секунд после травмы) способствуют распаду белка и мобилизации энергетических резервов. Формирующаяся инсулинорезистентность способствует прогрессированию катаболического состояния.

При хирургических вмешательствах, инфекционных заболеваниях, обширных ожогах – повышается расход энергии и температура тела. Существенно увеличивается высвобождение стресс-гормонов, включая адреналин, кортизол, глюкагон. Это

ведет к заметному повышению высвобождения аминокислот из белков тканей (исключение – транзиторное снижение концентраций аминокислот при инфузии адреналина, особенно в скелетной мышце). Первоначально вновь высвобождаемые АРУЦ дезаминируются, а затем образовавшиеся кетокислоты окисляются. Аминогруппы используются для синтеза аланина, глутамата, глутамина, которые попадают в кровь и транспортируются в печень для последующего глюконеогенеза. Часть кетокислот также высвобождается в кровоток и захватывается печенью для синтеза кетонных тел. Таким образом, глюконеогенез в печени повышается. Увеличивается синтез специфических белков (острофазный ответ). На этом фоне экзогенное введение АРУЦ благоприятно влияет на метаболический профиль и исход стресс-реакции у пациентов.

При инфекционном процессе выброс цитокинов клетками иммунной системы ведет к дальнейшей стимуляции распада белка. ФНО α может не только стимулировать продукцию глюкозы при воспалительном процессе, но и ингибировать ее продукцию (например, на терминальной фазе сепсиса). Вместе с тем, в условиях стресса или повреждения скелетные мышцы трансформируются из органа локомоции в депо свободных аминокислот и регулируют их поступление в общий кровоток.

Сепсис является классическим катаболическим состоянием, приводящим к изменениям в углеводном и энергетическом обменах, протеолизу мышечных белков и потере азота. Возникающая при сепсисе инсулинорезистентность снижает утилизацию глюкозы, однако поскольку уровень инсулина в плазме значительно увеличивается, это препятствует липолизу и приводит к дефициту энергии. Доступность энергосубстратов при сепсисе ограничена, что предрасполагает к глюконеогенезу и окислению аминокислот с целью активации энергетического обмена. Происходят существенные изменения в обмене аминокислот. Аминокислотный пул плазмы характеризуется повышением общего содержания аминокислот, вследствие, главным образом, высокого уровня ароматических аминокислот (фенилаланин и тирозин) и серосодержащих аминокислот (таурин, цистеин и метионин). Концентрации аланина, аспартата, глутамата и пролина также увеличиваются, но в меньшей

степени. Содержание АРУЦ (валин, лейцин и изолейцин) не изменяется, также как уровни глицина, серина, лизина, треонина, гистидина и триптофана. Пациенты, погибшие от сепсиса, имели более высокие уровни ароматических и серосодержащих аминокислот по сравнению с выписанными из стационара пациентами. С другой стороны, последние имели более высокие значения аланина и АРУЦ.

Был постулирован следующий механизм развития метаболических нарушений: у пациентов с сепсисом формируется инсулинорезистентность в периферических тканях, главным образом в мышцах, в то время как в жировой ткани этот процесс меньше выражен. Инсулинорезистентность и неспособность утилизировать липиды ведет к повышенному мышечному протеолизу. Распад скелетных мышц приводит к появлению в крови необычно большого количества свободных аминокислот; сами мышцы способны окислять АРУЦ, обеспечивая себя энергией и поставляя аланин для глюконеогенеза. Усиление мышечного протеолиза и неспособность печени эффективно набирать глюкозу приводит к появлению в плазме аминокислот, присутствующих в мышечных белках в повышенных количествах, и что особо важно, ароматических и серосодержащих. Показано, что на исход сепсиса положительный эффект оказывает комбинированная терапия, предусматривающая введение глюкозы, инсулина и АРУЦ.

При сепсисе уровни АРУЦ значительно снижаются. Эти изменения более выражены при тяжелом сепсисе [392]. У ожоговых пациентов уровень аминокислот в плазме снижается в основном за счет заменимых аминокислот. Изменение аминокислотного фонда в скелетных мышцах в целом похоже на аминокислотный профиль плазмы (за исключением аланина и глицина) [362]. В первые несколько недель концентрации АРУЦ не изменяются, а затем резко снижаются [100]. Экзогенное введение АРУЦ благоприятно влияет на метаболический профиль и исход у пациентов со стрессом различной этиологии.

Метаболический ответ на острое повреждение или травму обычно характеризуется повышенной скоростью метаболизма и переориентацией утилизации энергетических субстратов в

сторону внутренних органов. Это доказывается повышением скорости обмена веществ, повышенной потерей азота и потерей массы тела, стимуляцией синтеза белков острой фазы в печени, изменениями со стороны метаболизма липидов и углеводов. Катаболический стресс при травме, ожогах или сепсисе индуцирует заметную генерализацию катаболизма белков в мышцах, индикатором которого является повышенная потеря азота, и экскреции с мочой 3-метилгистидина (маркера катаболизма миофибрил) [142]. В зависимости от причины катаболического стресса и его тяжести потеря мышечного белка приводит к снижению, или наоборот, даже повышенному синтезу белка, который в последнем случае, однако, не способен компенсировать повышенный протеолиз. Этот ускоренный распад белка сопровождается торможением потребления аминокислот мышцами, приводя к повышенному потоку аминокислот из периферических тканей в печень. Параллельно стимулируется печеночное потребление аминокислот, биосинтез белка и глюконеогенез. При отсутствии коррекции этот метаболический ответ приводит к мальнутриции, которая может ухудшать стрессовую ситуацию, повышая чувствительность пациентов к инфекции.

Изменения в метаболизме белков и азотистом обмене отражают основную защитную реакцию организма, и, как показано, существует корреляция между потерей массы тела, заболеваемостью и смертностью. Следовательно, терапия, способная стимулировать анаболизм белка или замедлять распад белка, способствует восстановлению нарушенного метаболизма.

Метаболический ацидоз содействует повышению протеолиза, приводя к мышечной слабости и отрицательному азотистому балансу. АРУЦ полезны как маркеры этих изменений: их катаболизм повышается при ацидозе, особенно в случае почечной недостаточности. В результате нарушается азотистый баланс и возникает эндогенная недостаточность питания. Глюкокортикоиды задействованы в этих процессах через АТФ-зависимый убиквитин-протеасомный путь. Метаболический ацидоз и глюкокортикоиды действуют синхронно в стимуляции окисления АРУЦ у адреналэктомированных крыс. В мышцах нормальных крыс

метаболический ацидоз повышает максимальную активность скорость-лимитирующего фермента, дегидрогеназы разветвленных кетокислот.

Повышенное окисление АРУЦ в скелетных мышцах является одним из механизмов компенсации повышенной потребности в энергии. В нормальных условиях окисление АРУЦ в скелетной мышце обеспечивает 6-7% энергии, а при тяжелых катаболических состояниях может составлять свыше 20% [131].

При умеренном, кратковременном стрессе концентрации внутриклеточного белка и глутамин падают, тогда как концентрации АРУЦ в скелетной мышце растут, указывая на повышенный протеолиз, который обеспечивает поставки азота для синтеза глутамин [131]. Глутамин является источником азота и энергетическим субстратом, в первую очередь для клеток иммунной системы. При длительном истощающем стрессе заметно увеличивается утилизация глутамин, что может приводить к существенному снижению его продукции в скелетных мышцах. Если гиперкатаболическое состояние персистирует, в конечном итоге может наступить разрушение миофибрилл скелетных мышц.

Регуляция метаболизма АРУЦ другими гормонами изучена недостаточно. Гормон роста участвует в динамике накопления белка и, возможно, действует через инсулиноподобные ростовые факторы. Показано, что под влиянием гормона роста и инсулиноподобного фактора роста-1 белковый баланс улучшается. Гормон роста, вероятно, повышает кровоток в периферических тканях, способствуя вазодилатации. Интересно, что этот эффект подобен действию инсулина, который также вызывает расслабление крупных мышечных артерий, вазодилатацию более мелких артериол, расслабление терминальных артериол и отвечает за распределение кровотока в пределах скелетной мышцы. Эти эффекты, вероятно, дополняют собственно метаболические эффекты гормона роста. При введении гормона роста окисление лейцина снижается, но продукция CO_2 в организме и поток лейцина не изменяются. Неокислительное распределение лейцина существенно выше при введении гормона роста, но этот эффект проявляется в немускульных тканях [91].

Показано, что IGF-1 действует во многом как инсулин, и хотя его анаболический эффект в основном обусловлен торможением распада белка, он воздействует на уровни АРУЦ, также как и введение инсулина [134]. Тестостерон, мужской половой гормон, повышает синтез белка в скелетной мышце [144].

АРУЦ не синтезируются в организме человека, но они входят в число 20 аминокислот, необходимых для биосинтеза белков и нейротрансмиттеров. Кроме того, анаболическая роль АРУЦ обусловлена не только их важной ролью в качестве промоторов процесса трансляции (и возможно, активации биосинтеза белка на уровне транскрипции), но также ингибированием протеолиза. Лейцин может играть важную роль в этих сигнальных механизмах. Добавки АРУЦ препятствуют падению массы тела, улучшают восстановление функций организма после физической нагрузки, хронических воспалительных или инфекционных заболеваний, препятствуют истощению мышечной массы у пожилых лиц, оказывают благоприятные эффекты при поражении печени и почек. Помимо того, добавки, содержащие АРУЦ, активно используются спортсменами [378].

Утилизация и синтез глюкозы, вероятно, представляют собой фундаментальные метаболические процессы в организме. Так, печень и почки являются основными органами, способными к глюконеогенезу у человека. Скелетные мышцы, благодаря своей массе, являются основным источником глюконеогенных субстратов. Существует тонкий баланс между высвобождением аминокислот из белков в мышцах и утилизацией аминокислот для глюконеогенеза в печени. Межорганный перенос углеродных скелетов аминокислот вносит важный вклад в обеспечение мозга глюкозой. В большинстве случаев, когда глюкозу невозможно получить с пищей, доступность аминокислот повышается путем ускорения деградации белков скелетных мышц. Аминокислоты, образовавшиеся в результате протеолиза, используются в различных метаболических путях. Так, определенное количество аминокислот может повторно участвовать в биосинтезе белка и включаться в структуру белковых молекул. Кроме того, аминокислоты способны подвергаться окислению в

митохондриях, что приводит к образованию восстановленных дыхательных эквивалентов и АТФ. По меньшей мере шесть аминокислот (аланин, аспартат, глутамат, лейцин, изолейцин и валин) могут окисляться в скелетной мышце. Аминокислоты после протеолиза способны высвобождаться в общую циркуляцию. Скелетные мышцы обладают способностью использовать азот АРУЦ для синтеза аланина и глутамина, таким образом способствуя синтезу этих заменимых аминокислот *de novo*. Митохондриальная регуляция окисления аминокислот и углеводов играет жизненно важную роль в синтезе аланина и глутамина.

Основными аминокислотами, высвобождаемыми скелетными мышцами при голодании, являются аланин и глутамин. Общее содержание аланина и глутамина в белках скелетных мышц немногим более 10%, тогда как вместе они составляют более 60% аминокислот, высвобождаемых в кровоток скелетной мышцей. Следовательно, эти две аминокислоты высвобождаются в количествах намного больших, чем это могло бы быть при простом протеолизе мышечных белков.

Аминокислоты высвобождаются из скелетной мышцы и захватываются печенью, где превращаются в глюкозу. Высвобождаемая аминогруппа используется для синтеза мочевины. Мочевина затем экскретируется из организма почками. Физиологическое значение окисления аминокислот для получения энергии не так важно, как способность скелетных мышц превращать аминокислоты в аланин и глутамин, количество которых, как уже указывалось, значительно превышает их содержание в белках скелетных мышц.

Аланиновый цикл

Путь, по которому аланин образуется и транспортируется кровью обратно в печень, получил название глюкозо-аланинового цикла. Около 30% высвобождаемого скелетной мышцей аланина образуется в результате распада белка, тогда как остальные 70% синтезируются *de novo*. Глюкоза метаболизируется в скелетной мышце в пируват по пути гликолиза. Пируват в скелетной мышце может быть утилизирован тремя способами. Первое, он может транспортироваться в митохондрии и окисляться пируватдегидрогеназой в ацетил-КоА и затем полностью

окисляться в ЦТК. Второе, он может восстанавливаться в лактат с потреблением НАДН. И, наконец, пируват может трансаминироваться в аланин в реакции, катализируемой аланинаминотрансферазой. Пируватдегидрогеназный комплекс катализирует первую, необратимую реакцию митохондриального окисления глюкозы, и таким образом фактически детерминирует окисление глюкозы. Регуляция этого комплекса важна не только для гомеостаза глюкозы, но и для судьбы накапливающихся аминокислот. Окисление пирувата приводит к истощению запасов глюкозы, поскольку глюкоза не может быть синтезирована из ацетил-КоА. Реакция, катализируемая пируватдегидрогеназным комплексом, физиологически необратима. Следовательно, активность комплекса детерминирует, будет ли пируват окислен в ЦТК или превратится в лактат лактатдегидрогеназой, или в результате трансаминирования образуется аланин. Источником азота для синтеза аланина являются другие аминокислоты. Более чем 60% азота для синтеза аланина поставляется АРУЦ.

Трансаминирование АРУЦ катализирует аминотрансфераза разветвленных аминокислот. Существует две аминотрансферазы, одна преимущественно для валина (недостаточность которой приводит к гипервалинемии) и вторая – для лейцина и изолейцина (недостаточность которой приводит к лейцин-изолейцинемии). Образующиеся кетокислоты (α -кетоизокапроат, кетометилвалерат, кетоизовалерат), доступны для окислительного декарбоксилирования митохондриальной дегидрогеназой разветвленных кетокислот, локализованной на внутренней митохондриальной мембране и образующей ацетил-КоА (лейцин) или сукцинил-КоА (изолейцин и валин), поступающие затем в ЦТК. Недостаточность дегидрогеназы ведет к накоплению кетокислот в крови и последующей элиминации их из организма.

Глутаминовый цикл

В зависимости от определенных физиологических состояний глутамин выполняет различные метаболические функции в тканях. Его функции в клетке характеризуются: 1) участием в транспорте азота и детоксификации аммиака, 2) сохранением окислительно-восстановительного потенциала в

клетке (редокс-статус), 3) функцией промежуточного метаболита, 4) способностью полностью окисляться с целью продукции энергии. Глутамин, как и аланин, может образовываться при метаболизме аминокислот в скелетной мышце. Глутамин является основным межорганным переносчиком азота. Этот «переносчик азота» обеспечивает нетоксичный транспорт аммиака из периферии к внутренним органам. После попадания в орган-мишень аммиак может быть регенерирован с целью экскреции или синтеза мочевины [8в].

Глутамин синтезируется из внутримышечного глутамата и аммиака глутаминсинтетазой. Глутаминсинтетаза образует более 50% глутамина. В скелетной мышце при катаболических состояниях повышается экспрессия глутаминсинтетазы, что проявляется индукцией образования соответствующей мРНК на 400–700%. Генная индукция экспрессии глутаминсинтетазы в скелетной мышце во многом зависит от уровня катехоламинов в крови.

Глутамат, вероятно, в основном образуется из α -кетоглутарата путем трансаминирования с другими аминокислотами. Кетоглутарат образуется в ЦТК из цитрата или поступает в митохондрии через аспартат-малатный шунт. Активация пируватдегидрогеназы ведет к увеличению продукции глутамина, вероятно, вследствие снижения доступности пирувата для трансаминирования с глутаматом и образования аланина. Может использоваться и аммиак, образующийся в реакции, катализируемой глутаматдегидрогеназой. В результате поступление глутамата должно повышаться и он становится доступным для синтеза глутамина *de novo* [168].

Печень является основным органом, ответственным за детоксификацию аммиака и гомеостаз глутамина. Транспорт глутамина через плазматическую мембрану клеток печени является лимитирующей стадией в метаболизме аминокислоты, особенно при ускорении внутриклеточного катаболизма. В физиологических условиях в гепатоцитах печени человека и крысы транспорт глутамина в основном осуществляется Na^+ -зависимым транспортером, обладающим относительно небольшим набором субстратов (глутамин, гистидин, аспарагин) и называемым транспортной системой N [169].

В митохондриях аммиак также образуется из глутамина путем гидролиза глутаминазой в глутамат. Превращение глутамата в кетоглутарат под действием глутаматдегидрогеназы также генерирует аммиак. В печени аммиак может реагировать с CO_2 , образуя карбамоилфосфат, который затем поступает в цикл мочевины. Аминогруппа глутамата или глутамина может поступать непосредственно в цикл мочевины при образовании аспартата из оксалоацетата [166].

Одной из основных функций печени является сохранение гомеостаза аммиака в организме. Метаболизм глутамина гетерогенно распределен в печени – расщепление глутамина глутаминазой происходит в основном в перипортальных гепатоцитах, тогда как синтез глутамина глутаминсинтетазой осуществляется в основном в перивенозных гепатоцитах. Это распределение функций обеспечивает печени рациональный механизм детоксификации аммиака и одновременно высвобождения глутамина в кровоток [167].

Одной из важнейших функций почек, особенно в состояниях метаболического ацидоза, является сохранение кислотно-щелочного равновесия. С целью экскреции протонов при метаболическом ацидозе в почках повышается аммиогенез. Использование глутамина как переносчика азота также важно для экскреции токсичных азотсодержащих метаболитов и сохранения кислотно-щелочного равновесия. Циркулирующий в крови глутамин составляет 80-90% образуемого при ацидозе аммиака. В физиологических условиях почки захватывают глутамин из крови в минимальном количестве. Однако при метаболическом ацидозе почечная экстракция глутамина заметно повышается. Повышенное почечное потребление глутамина и его дальнейший метаболизм способствуют коррекции кислотно-щелочного баланса [168].

Гомеостатический ответ организма включает изменение межорганного потока глутамина. Количество глутамина, высвобождаемого из скелетных мышц, удваивается, происходит перераспределение потока глутамина во внутренних органах – вместо его потребления происходит его высвобождение и почки становятся основным местом потребления глутамина [167].

Глутамин через клеточную мембрану переносят три Na^+ -

зависимых транспортных системы (система А, система ASC (АТВ0) и система N). При ацидозе почти весь глутамин, отфильтрованный в почечных клубочках, захватывается обратно проксимальными канальцами почек. Основная часть глутамина поступает из крови через базолатеральную мембрану с участием системы N1 (SN1) – транспортера аминокислот. Ацидоз вызывает 10-кратное увеличение в почках уровня мРНК SN1 и почти 100-кратное увеличение мРНК в коре почек. Ацидоз повышает Na^+ -зависимое потребление глутамина транспортером (SN1) в базолатеральной и пограничной мембране везикул, выделенных из коры почек. Вероятно, SN1 является наиболее важным переносчиком циркулирующего глутамина в клетках почечных канальцев при ацидозе [325].

После поступления в клетки почечных канальцев глутамин подвергается воздействию специфического для почек изофермента глутаминазы, гидролизующей глутамин и генерирующей аммиак для последующей экскреции с мочой. Катаболизм глутамина составляет основную часть азота, выводимого с мочой. Более того, наличие доступного аммиака также облегчает общую экскрецию кислот, связывая ионы H^+ и генерируя аммоний для экскреции. Метаболизм глутамина продуцирует также ионы бикарбоната, которые могут быть использованы для дальнейшей нейтрализации ионов водорода в крови [376].

Таким образом, адаптивные изменения в проксимальных пограничной и базолатеральной мембранах почек при ацидозе включают: 1) усиление транспорта глутамина и повышение доступности глутамина для аммионогенеза и одновременное облегчение секреции ионов водорода в мочу и кровь; 2) увеличение потребления глутамина фосфат-зависимой глутаминазой, глутаматдегидрогеназой и фосфоенолпируваткарбоксилазой; 3) повышается активность антипорта Na^+/H^+ и $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$, что увеличивает секрецию H^+ в мочу и реабсорбцию ионов бикарбоната в кровь.

Помимо участия в продукции мочевины, глутамин играет ключевую роль в регуляции синтеза глутатиона. Трипептид глутатион, синтезируемый из глутамата, глицина и цистеина, в основном используется для восстановления НАДФ,

участвующего в различных системах антиоксидантной защиты. Являясь источником внутриклеточного глутамата, глутамин поставляет один из компонентов глутатиона, но одновременно глутамин также опосредованно способствует синтезу глутатиона, стимулируя приток в клетку второго компонента – цистеина [114].

Как поступление глутамина в печень, так и удаление его из этого органа при различных физиологических и патофизиологических ситуациях весьма широко варьирует. Физиологические концентрации аммиака в портальной крови могут стимулировать печеночную глутаминазу, что позволяет печени в ответ на прием пищи повышать потребление глутамина. При голодании, нутритивной недостаточности, сопряженной с сепсисом, выбросе провоспалительных цитокинов, при обширных ожогах, злокачественных опухолях и избытке в организме глюкокортикоидов повышается транспорт и утилизация глутамина в печени. Однако при метаболическом ацидозе поток глутамина направлен из печени в почки. В этих условиях продукция мочевины в печени падает, но одновременно возрастает аммониягенез в почках для облегчения экскреции H^+ [86].

При утилизации АРУЦ организм получает минимальное количество калорий, не стимулируется глюконеогенез и не увеличивается скорость клубочковой фильтрации, как это имеет место при назначении других аминокислот, например таких как аланин, или при потреблении высокобелкового рациона. АРУЦ являются важным источником азота для синтеза заменимых аминокислот – глутамина и аланина. Назначение АРУЦ полезно при поражении печени, поскольку эти аминокислоты в основном метаболизируются в скелетной мышце, а в печень поступают их метаболиты [8в].

В контролируемых лабораторных условиях определение содержания в сыворотке (плазме) АРУЦ полезно как один из инструментов оценки деградации/синтеза белка. При голодании единственным источником АРУЦ является протеолиз, который является ключевым процессом сохранения количества важнейших белков и ферментов, а также репаративного процесса в тканях. Тем не менее, уровни АРУЦ в постабсорбтивном

состоянии остаются в узких пределах. Это выглядит вполне логично, если предполагать, что АРУЦ или другие незаменимые аминокислоты при превышении потребности в них для биосинтеза белка усиленно окисляются. Фактически, степень окисления лейцина коррелирует с концентрацией этой аминокислоты в плазме [235].

Среди АРУЦ лейцин в наибольшей степени подходит на роль нутриента, обладающего сигнальной функцией. Во-первых, повышение концентрации лейцина в наибольшей степени среди всех АРУЦ ускоряет биосинтез белка. Во-вторых, он не синтезируется в организме млекопитающих *de novo*. Следовательно, изменения в плазме уровня лейцина могут происходить в случае его поступления с пищей, распада ткани или изменения скорости окисления или экскреции. Третье, АРУЦ – наиболее распространенные аминокислоты в пищевых белках. Четвертое, абсорбируясь в кишечнике, лейцин не может прямо метаболизироваться в печени, в которой отсутствует аминотрансфераза разветвленных аминокислот, митохондриальный фермент, ответственный за удаление аминогруппы. Отметим, что печень способна инициировать катаболизм всех других аминокислот. В противоположность печени большинство других тканей имеют высокую способность катаболизма АРУЦ на первом этапе трансаминирования. Это может облегчать постпрандиальное увеличение концентрации лейцина в плазме, поскольку лейцин не задерживается в печени.

Первые две стадии катаболизма общие для всех АРУЦ. На первой стадии происходит обратимое трансаминирование АРУЦ с кетоглутаратом с образованием разветвленных кетокислот и глутамата. Затем образующийся глутамат трансаминируется с пируватом, образуя аланин и регенерируя кетоглутарат или глутамат, превращается в глутамин. После трансаминирования разветвленные кетокислоты подвергаются необратимому окислительному декарбоксилированию. Ферменты, катаболизирующие АРУЦ, широко представлены в тканях организма и, за исключением нервной системы, все реакции происходят в митохондриях клетки. Внутриклеточная компарментализация изоферментов аминотрансфераз разветвленных кислот (митохондриальная и цитозольная

локализации) влияет на интра- и межорганный обмен метаболитов АРУЦ, а также цикл азота в организме.

Хорошо известно, что аминокислоты, включая АРУЦ, особо необходимы для сохранения функции скелетных мышц у пожилых лиц [224, 265]. В покое АРУЦ, и особенно лейцин, обладают анаболическим эффектом, повышая биосинтез белка и/или снижая скорость распада белка, способствуют положительному белковому балансу. Инфузия АРУЦ повышает фосфорилирование и активирует p70S6 киназу и 4E-BP1 в скелетных мышцах [234]. p70S6 киназа и 4E-BP1 являются представителями сигнального пути с участием протеинкиназы mTOR, который контролирует трансляцию мРНК и биосинтез белка [329]. Лейцин является прямым нутритивным сигналом, который регулирует синтез белка в тканях. Эффекты лейцина на биосинтез белка ограничены во времени, поскольку избыток лейцина удаляется, в том числе в результате окисления. В этом отношении на первый план выступает важность компарментализации лейцина. Именно митохондриальный метаболизм лейцина может быть сопряжен с активацией лейцином сигнального пути mTOR. Потенциальной мишенью регуляции может быть, в частности, дегидрогеназа разветвленных кетокислот. Известно, что α -кетоизокапроат является физиологическим ингибитором киназы дегидрогеназы. Кроме того, степень эффективности воздействия (лейцин > изолейцин > валин) и важность лейцина в активации сигнального пути mTOR подобна таковой в отношении разветвленных кетокислот, способных активировать дегидрогеназный комплекс путем ингибирования киназы дегидрогеназы.

Лейцин-зависимая стимуляция трансляции мРНК *in vivo* осуществляется, в частности, через рапамицин-чувствительный путь. Обработка рапамицином, ингибитором протеинкиназного комплекса mTOR, снижает mTOR-зависимое фосфорилирование S6K1 и 4E-BP1. При этом ингибирование mTOR не способно полностью блокировать эффект лейцина в отношении стимуляции биосинтеза белка. Существуют и mTOR-независимые механизмы стимуляции инициации трансляции лейцином.

Повышенные дозы лейцина, вводимые внутривенно, положительно коррелируют с увеличением уровня лейцина в плазме. Фосфорилирование специфической киназой S6K1 мультиферментного комплекса mTOR (Tpe389 – сайта, ведущего к активации) в жировой ткани было максимальным при введении такого количества лейцина, которое повышало уровень лейцина в плазме примерно в 3 раза. Показано, что существует различие между количеством лейцина, необходимого для активации S6K1, и фосфорилирования дегидрогеназного комплекса. Только при концентрациях выше, чем требуется для активации S6K1, уменьшается количество фосфорилированного дегидрогеназного комплекса, что позволяет именно в этой метаболической ситуации направлять поток лейцина на окисление. Следовательно, по мере того, как концентрация лейцина становится слишком высокой, происходит стимуляция окисления лейцина в периферических тканях, что приводит к снижению уровня лейцина в крови.

Потребление лейцина способствует прямому фосфорилированию и активации mTOR в скелетной мышце [117] и повышению биосинтеза белка. Однако изменения скорости белкового синтеза относительно транзиторны и не зависят от количества потребляемых незаменимых аминокислот [209]. Энтеральное назначение лейцина повышает скорость биосинтеза белка в скелетных мышцах зрелых крыс [96], а удаление этой аминокислоты из питания, напротив, препятствует стимуляции синтеза белка другими соединениями [363]. Анаболический эффект уникален для лейцина, поскольку повышение циркулирующего уровня других АРУЦ не изменяло скорость биосинтеза белка в скелетных мышцах [101].

Влияние нутриентов на экспрессию генов становится важной областью исследований. Доказано участие основных (углеводы, жирные кислоты, стероиды) и минорных (минералы и витамины) пищевых ингредиентов в регуляции экспрессии генов. Регуляция экспрессии генов осуществляется на многих уровнях, включая транскрипцию, процессинг и стабилизацию мРНК, трансляцию, модификацию и влияет на период полусуществования белков. Известно, что трансляция мРНК, в дополнение к транскрипции, является важным пунктом контроля

экспрессии генов. Между тем у эукариотов, в отличие от прокариотов, именно контроль трансляции является наиболее важным в регуляции экспрессии гена. Контроль на уровне биосинтеза белка позволяет клеткам быстро реагировать на изменение физиологических условий, поскольку активация или репрессия мРНК происходит немедленно. С другой стороны, регуляция на уровне транскрипции требует больше времени, поскольку предшественники мРНК и сама мРНК должны накапливаться или расходоваться в цитоплазме [412].

Хотя АРУЦ необходимы для организма, избыточные количества АРУЦ могут оказывать негативное действие. Высокий уровень АРУЦ в плазме является маркером врожденной патологии – болезни «мочи с запахом кленового сиропа». Это угрожающее жизни состояние, в среднем в популяции встречающееся с частотой 1 на 180000 новорожденных детей. Патология получила наибольшее распространение в отдельных замкнутых по этническому или религиозному принципу общинах и поселениях [88, 342].

Использование высоких концентраций различных аминокислот в рационе может влиять на рост опухолевых клеток. В культуре клеток и *in vivo* наибольшую эффективность в этом отношении проявлял аргинин [233]. Исследования показывают, что и АРУЦ могут препятствовать потере массы тела в экспериментальных моделях мышечной атрофии [138]. Хотя антипролиферативный ответ на введение отдельных аминокислот имеет место при достаточно высоких концентрациях аминокислот (100 ммоль/л), но аргинин и лейцин подавляют рост клеток при более низких концентрациях (50 и 10 ммоль/л, соответственно) [399]. Возможно, это было обусловлено формированием аминокислотного дисбаланса в среде, поскольку АРУЦ конкурируют за одинаковые переносчики на плазматической мембране. Этот аминокислотный дисбаланс может нарушать биосинтез белка, приводя к торможению роста клетки. Способность аргинина и лейцина индуцировать гибель клеток указывает на возможное участие в этом процессе и других механизмов. Так, высокие концентрации аргинина и лейцина способствуют стимуляции каспаза-опосредованного апоптоза, тогда как валин и изолейцин хотя и снижают пролиферацию, но

не индуцируют апоптоз. В обработанных лейцином клетках отсутствует фаза клеточного цикла G2M, и большая часть клеток останавливается в S фазе, тогда как этот феномен не наблюдается, когда апоптоз индуцируется аргинином [399].

Прогрессирующее снижение мышечной массы с возрастом не только влияет на общее состояние здоровья, но также повышает зависимость от других метаболических процессов в организме и в целом снижает качество жизни. Старение характеризуется прогрессирующей потерей мышечной массы, которое ведет к саркопении и частично объясняется нарушением анаболического эффекта пищи. В пожилом возрасте обычно формируется состояние, называемое саркопенией. Саркопения – связанная со старением организма – потеря мышечной массы, приводящая к ограничению подвижности, мышечной слабости и повышенной чувствительности к повреждению. Эта атрофия сопровождается прогрессирующим снижением мышечной силы, что влияет на подвижность и здоровье пожилых людей. В скелетных мышцах скорость синтеза тяжелых цепей миозина уменьшается, тогда как биосинтез саркоплазматических белков сохраняется на прежнем уровне или даже увеличивается [39]. Показано, что снижение скорости биосинтеза белка – следствие нарушения ответа на сигнальную функцию лейцина в скелетных мышцах старых крыс. Этого не происходит в случае добавления антиоксидантов в рацион, что связывают с подавлением воспалительных процессов в организме старых животных [252]. Механизм развития саркопении плохо изучен. Вместе с тем доказано, что дисбаланс между биосинтезом белка и протеолизом может приводить к потере мышечной массы.

Поскольку наиболее активный катаболизм белка наблюдается в постабсорбтивном состоянии, результаты исследований показывают, что саркопения чаще всего вызывается уменьшением стимуляции или изменением чувствительности к анаболическим факторам. Хотя скелетные мышцы пожилых людей очень чувствительны даже к кратковременному отсутствию физической активности, возможно, дополнительно требуется и особый набор нутриентов для сохранения адекватной скорости биосинтеза белка.

Саркопения является многогранным процессом, характеризующимся изменениями в морфологии мышечных волокон, нарушениями сократимости мышечных волокон и кинетики белков, чувствительности к инсулину и включает недостаточное питание, снижение ферментативной активности, окислительный стресс, воспаление и эндокринные изменения [151]. Хотя общая скорость синтеза белка в мышцах пожилых лиц относительно не нарушена [314], основным фактором, тем не менее, является снижение способности увеличивать скорость биосинтеза белка в мышцах в ответ на поступление нутриентов, т.н. «анаболическая резистентность» [151]. Дополнительное введение незаменимых аминокислот или поступление в организм смеси аминокислот повышает биосинтез белка в скелетных мышцах пожилых людей [396].

С возрастом способность аминокислот регулировать секрецию гормонов снижается. Хотя показано, что введение лейцина и изолейцина стимулирует высвобождение инсулина, но с возрастом эта способность ослабевает. При старении снижается функциональная активность митохондрий вследствие уменьшения репликации ДНК и скорости продукции АТФ [45]. В свою очередь введение аминокислот совместно с инсулином увеличивает биогенез митохондрий. Поскольку АРУЦ являются сигнальными молекулами, возможно, что влияние на митохондрии скелетных мышц опосредуется именно АРУЦ. Заметим, что катаболизм АРУЦ тесно связан с функцией митохондрий, поскольку дегидрогеназа разветвленных кетокислот локализована именно в митохондриях, т.е. скорость-лимитирующая стадия их окисления протекает в именно в этих органеллах. Поскольку с возрастом снижается масса скелетной мускулатуры, это уменьшает потенциальную возможность окислять АРУЦ. Более того, в пожилом возрасте повышается риск полинутривной недостаточности, которая также может влиять на метаболизм АРУЦ.

Недостаточность питания является общей проблемой пожилых лиц. С возрастом снижается и потребление белка. Если физическая активность не повышается и не увеличивается потребность в энергии, то увеличение потребления нутриентов не имеет практического смысла. Для максимального увеличения

эффекта пищевых добавок необходима ежедневная физическая нагрузка. Поскольку способность утилизировать пищевые белки (аминокислоты) мышечной тканью с возрастом снижается, пожилым лицам требуется большее количество аминокислот для сохранения мышечного белкового баланса и, соответственно, мышечной массы.

Основным элементом регуляции метаболизма белка в скелетных мышцах является доступность аминокислот. Гипераминоацидемия быстро стимулирует биосинтез мышечного белка, повышая транспорт аминокислот в миоциты [54]. Следует отметить, что связанное с возрастом снижение способности утилизировать экзогенные аминокислоты может быть следствием специфических проблем на уровне мышечных клеток, включая снижение трансмембранного транспорта аминокислот, уменьшение доступности субстратов для синтеза белка, или модуляция реакции на гормоны или другие анаболические стимулирующие факторы. Принято считать, что хотя с возрастом мышечная масса уменьшается, анаболизм в мышцах все же можно активировать увеличением доступности аминокислот.

Лейцин может повышать биосинтез белка в такой же степени, что и смесь аминокислот, способствуя активации инициации трансляции [205]. Нарушение способности лейцина стимулировать синтез белка в мышцах старых крыс обусловлено снижением способности лейцина активировать киназу 70-kDa рибосомального белка S6 [121]. Исследования показали, что возрастные изменения могут в значительной степени замедляться дополнительным назначением лейцина.

Окислительный стресс с возрастом усиливается, что может вызывать изменения в ДНК, липидах и белках, приводя к нарушению их биологических функций. Исследования *in vitro* показали, что клетки, подвергнутые окислительному стрессу, имеют меньшую чувствительность к регуляторным факторам, в частности к инсулину [129].

Старение сопровождается развитием вялотекущего воспаления с увеличением в плазме содержания белков острой фазы [308]. D.Cuthbertson [99] показал, что при старении в скелетной мышце увеличивается уровень ядерного фактора B, что подтверждает наличие хронического воспаления. Увеличение

концентраций фибриногена, 2-макроглобулина и, напротив, падение содержания альбумина также подтверждает наличие вялотекущего воспаления [255].

Окислительный стресс часто сопровождает хроническое воспаление и также чаще наблюдается у пожилых лиц. Добавки антиоксидантов снижают концентрацию в плазме 2-макроглобулина, массу селезенки и почек у старых крыс. Поскольку свободные радикалы кислорода ответственны за повреждение клеточных структур и отдельных молекул, они могут тормозить анаболический эффект лейцина. В подобных патофизиологических ситуациях стимуляция биосинтеза белка лейцином восстанавливается при назначении комплекса антиоксидантов, причем независимо от увеличения доступности лейцина. Кроме того, добавки, содержащие антиоксиданты, усиливают лейцин-опосредованное ингибирование протеолиза, особенно в скелетных мышцах старых крыс. Антиоксиданты оказывают синергистическое действие с лейцином, улучшая анаболические процессы в скелетных мышцах и восстанавливая эффекты лейцина в постабсорбционный период.

Потребление АРУЦ, главным образом лейцина, повышает активацию сигнального комплекса mTOR, участвующего в регуляции синтеза белка в скелетных мышцах посредством инсулин-зависимого и инсулин-независимого сигнальных механизмов [204]. Доказано, что потребление больших количеств лейцина приводит к преодолению «анаболической резистентности» и оказывает благоприятный эффект на биосинтез белка в скелетных мышцах, способствует сохранению мышечной массы у пожилых лиц. Поскольку лейцин обладает сильной инсулинотропной активностью [247], это также способствует повышению доступности аминокислот для биосинтеза белка в мышцах и ингибированию протеолиза, что приводит к улучшению белкового баланса в скелетной мышце и увеличению утилизации глюкозы, что одновременно поддерживает гомеостаз глюкозы в организме.

Ограничение калорий в виде низкокалорийного режима питания без мальнутриции снижает частоту ряда заболеваний, характерных для лиц пожилого возраста и увеличивает продолжительность жизни [146]. Выявление ключевых

механизмов реализации этого явления, связанного с ограничением калорий – повышение митохондриального дыхания и снижение продукции свободных радикалов кислорода – является «горячей» темой геронтологии. Увеличение емкости антиоксидантной системы также связано с ограничением поступления калорий [146, 300]. Добавки АРУЦ повышают биогенез митохондрий и экспрессию белка сиртуина 1 (SIRT1), увеличивают активность антиоксидантной системы, которая снижает степень поражения свободными радикалами как сердечной, так и скелетной мышц [386]. Показано, что ограничение калорий у мышей способствует биогенезу митохондрий в тканях, главным образом вследствие повышения экспрессии рецептора – ко-активатора 1α , активирующего пролифератора пероксисом (PGC- 1α) [146] – мощного регулятора митохондриального биогенеза и активатора антиоксидантной системы [364]. Ограничение калорий индуцирует экспрессию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и SIRT1, что также повышает биогенез митохондрий и снижает продукцию свободных радикалов кислорода [300]. Три из семи сиртуинов млекопитающих (SIRT3, SIRT4 и SIRT5) являются своеобразными мишенями для свободных радикалов в митохондриях и их экспрессия может дифференцированно регулироваться режимом «дефицита калорий» [283].

В свою очередь поступление с пищей АРУЦ оказывает благоприятные эффекты у экспериментальных животных и человека, способствует биогенезу митохондрий в сердечной и скелетной мышцах, предупреждает окислительное повреждение и повышает физическую выносливость у мышей, приводя к удлинению продолжительности их жизни [146].

Аминокислоты являются важными предшественниками компонентов ЦТК. Катаболизм аминокислот ведет к продукции аммиака, который метаболизируется в том числе в орнитинном цикле, первые стадии которого протекают в митохондриальном матриксе. Добавки аммиака могут индуцировать биогенез митохондрий, способствуя катаболизму самих аминокислот. Nakagawa et al. [283] показали, что ограничение калорий в течение длительного периода или содержание животных на высокобелковом рационе приводит к деацилированию

митохондриального SIRT5 и активирует карбамоилфосфатсинтетазу 1, первую и основную регуляторную стадию цикла мочевины. Митохондриальная деацилаза SIRT3 непосредственно регулирует активность орнитинтранскарбамоилазы, фермента, катализирующего вторую стадию цикла мочевины, способствуя, таким образом, катаболизму аминокислот при ограниченном поступлении калорий [150]. Эти данные подтверждают, что индуцированный аминокислотами биогенез митохондрий может быть важной функцией модуляции катаболизма аминокислот и что аминокислоты могут прямо или опосредованно иметь отношение к эффектам ограниченного поступления калорий, оказывающим влияние на продолжительность жизни млекопитающих.

При митохондриальном катаболизме изолейцина и лейцина образуются C5-ацилкарнитины, которые представлены метилбутирил- и изовалерилкарнитинами, соответственно. В свою очередь C3-ацилкарнитины образуются из пропионил-КоА, который является побочным продуктом катаболизма как валина, так и изолейцина. Таким образом, окислительный катаболизм АРУЦ генерирует медленно метаболизируемые C3 и C5 ацилкарнитины. После нагрузки АРУЦ в клетках печени и скелетных мышц увеличиваются концентрации C3 и C5 ацилкарнитинов, что оказывает дополнительную нагрузку на фонд свободного КоАШН и может, таким образом, модулировать окисление свободных жирных кислот.

Показано, что накопление АРУЦ в плазме, как следствие употребления добавок или вследствие других причин, повышает поток этих аминокислот в скелетные мышцы. Активация АРУЦ-катаболизирующих ферментов ведет к увеличению содержания C3 и C5 ацилкарнитинов в крови пациентов с ожирением или инсулинорезистентностью. В свою очередь накопление глутамата, вследствие катаболизма АРУЦ в скелетных мышцах, может повышать скорость трансаминирования пирувата в аланин.

Повышенный катаболизм АРУЦ в мышечных тканях и печени должен приводить к повышенной продукции и накоплению пропионил-КоА и сукцинил-КоА. Причиной данного эффекта является низкая активность ферментов, метаболизирующих эти ацил-КоА, а также истощение фонда

КоASH, что влияет на β -окисление жирных кислот. В таких условиях роль глюкозы как энергетического субстрата снижается [18].

Известно, что пропионил-КоА и сукцинил-КоА являются аллостерическими ингибиторами цитратсинтазы. Кроме того, митохондриальные белки могут подвергаться посттрансляционной модификации, включая сукцинирование и пропионилирование, помимо традиционно известного механизма ацетилирования, что позволяет создавать конкурентно обусловленный дисбаланс между метаболизмом глюкозы и жирных кислот, а также формировать ряд других изменений, связанных с нарушением конформации белковых молекул. Помимо этого, в печени избыток неуглеводных предшественников, образуемых при катаболизме АРУЦ, может способствовать повышению скорости липогенеза и глюконеогенеза. В целом избыток потребления АРУЦ может тормозить β -окисление [8, 18].

Почему уровни АРУЦ и сопутствующих метаболитов повышаются при ожирении и инсулинорезистентности? Возможно несколько вариантов. Один из них – это повышенное потребление белка. Однако показано, что повышенное потребление белка не влияет на содержание АРУЦ и ароматических аминокислот в плазме крови. Еще одним механизмом может быть экспрессия генов, кодирующих ферменты катаболизма АРУЦ или белковых факторов, которые контролируют биосинтез и кругооборот белка. Кроме того, не исключается и вклад кишечной микробиоты, поскольку многие виды бактерий способны *de novo* синтезировать АРУЦ, что может способствовать изменениям уровней циркулирующих в крови АРУЦ, хотя прямые доказательства такого эффекта микробиоты отсутствуют.

Существует достаточно тесная взаимосвязь между жировой тканью, метаболизмом АРУЦ и гомеостазом глюкозы. Экспрессия генов, участвующих в катаболизме АРУЦ, может быть очень серьезным фактором, влияющим на изменения циркулирующего уровня АРУЦ. Так, у мышей с ожирением, обусловленным сверхэкспрессией переносчика глюкозы GLUT4, обнаружено снижение экспрессии ферментов, катаболизирующих

АРУЦ, что приводило к увеличению концентрации АРУЦ в крови. Ожирение очень сильно влияет на активность ключевых ферментов катаболизма АРУЦ. Например, активность дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот снижается, а фосфорилирование компонента E1 ферментативного комплекса в жировой ткани увеличивается у мышей линии Zucker с ожирением и мышей ob/ob по сравнению с нормальными животными. При этом экспрессия данных ферментов в мышечной ткани не изменялась [405].

Синергизм действия АРУЦ и гиперлипидемии вносит вклад в развитие инсулинорезистентности. Согласно существующей гипотезе, повышение при ожирении циркулирующих АРУЦ связано с уменьшением их катаболизма в жировой ткани. При ожирении и избыточном питании легко усваиваемая глюкоза и липиды снижают необходимость катаболизма аминокислот в жировой ткани, но механизм, по которому накапливаются эти субстраты, вследствие снижения активности АРУЦ-катаболизирующих ферментов, остается плохо изученным. То, что некоторые лекарственные препараты могут восстанавливать экспрессию АРУЦ-катаболизирующих генов (клофибрат), может указывать на роль пероксисомального активатора рецептора пролиферации гамма (PPAR γ) в этом адаптивном пути метаболизма.

Таким образом, результирующее увеличение в крови концентрации АРУЦ, возможно, как результат их поступления с пищей, внутренних эпигенетических изменений, воздействующих на оборот АРУЦ или белка, и/или вследствие вклада кишечной микробиоты.

Ряд исследований подтверждает связь между содержанием АРУЦ и развитием инсулинорезистентности. Наблюдается индукция инсулинорезистентности в ответ на инфузию аминокислот добровольцам или животным, что сопровождается длительной активацией mTOR, S6K1 и фосфорилированием серина IRS1.

Показано, что при кормлении мышей odb/ob лейцин-дефицитным рационом у них повышается чувствительность к лейцину как регулятору синтеза белка. Добавление АРУЦ или ароматических аминокислот к культивируемым мышечным

клеткам приводит к активации mTOR, изменению фосфорилирования инсулин-стимулируемой Akt/протеинкиназы В и снижению инсулин-зависимого потребления глюкозы. Напротив, в других работах отмечено повышение чувствительности к инсулину в ответ на добавление лейцина. У мышей, полностью нокаутных по митохондриальной аминотрансферазе разветвленных аминокислот, наблюдается существенное (в 14-37 раз) увеличение в плазме уровня АРУЦ, сопряженное с рацион-индуцированным ожирением и повышением толерантности к глюкозе. Однако некоторые метаболические модуляции достаточно сложно объяснить. Так, добавки лейцина вызывают повышение циркулирующего уровня лейцина, но одновременно способствуют снижению концентраций других АРУЦ, следовательно, не создается метаболическая ситуация, полностью характерная для инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа, при которых концентрации всех трех АРУЦ и ряда других аминокислот повышены. Второе, не все исследования с добавками лейцина сопровождались одновременным кормлением животных высокожировым рационом, что является необходимым условием для проявления эффектов АРУЦ в отношении инсулинорезистентности у крыс. Третье, нокаутные мыши по митохондриальной аминотрансферазе разветвленных аминокислот имеют высокую скорость белкового футильного цикла и, обусловленное этим, повышенное производство энергии. У крыс, получавших высокожировой рацион + АРУЦ, или у пациентов с ожирением не наблюдали подобных изменений. Наконец, если АРУЦ участвуют в развитии метаболического синдрома, не следует ожидать, что их концентрации повысятся раньше, чем будет отмечено его прогрессирование, как это имеет место у лиц с инсулинорезистентностью, но нормальной массой тела или у пациентов с преддиабетом.

Потребность в незаменимых аминокислотах может частично компенсироваться кишечной микрофлорой. Последние рекомендации WHO/FAO/UNU по ежедневной потребности в незаменимых аминокислотах у взрослых в 2-3 раза выше, чем считалось ранее. Реальный дефицит аминокислоты может быть достаточно широко распространен, подобно существующей

проблеме хронической недостаточности лизина, которая отмечается в многочисленных ситуациях дефицита питания и потребность в нем значительно повышается при интестинальных паразитарных инфекциях с дефицитом питания [217].

Традиционно считается, что вся потребность людей в незаменимых аминокислотах удовлетворяется аминокислотами, поступающими с пищей. Однако доказано, что дополнительно происходит постоянная абсорбция незаменимых аминокислот, синтезированных микрофлорой кишечника. Вклад кишечной микрофлоры в обеспечение лейцином оценивается в 19-22% [326]. Абсорбция лизина, синтезированного микрофлорой, составляет 29–68 мг/кг в сутки, что столько же, сколько вся оцениваемая потребность в лизине взрослого человека (30 мг/кг в сутки) [263]. Потребность в лейцине оценивается в 40 мг/кг в сутки [218].

Микроорганизмы кишечника способны гидролизовать мочевины и синтезировать незаменимые аминокислоты. Подавление кишечной микрофлоры антибиотиками приводит к соответствующему уменьшению окисления лейцина в организме. Даже небольшой воспалительный процесс повышает окисление лейцина на 10% [216]. Показано, что только небольшая часть валина для микробного белка синтезируется *de novo*, используя азот мочевины. Значительно большая часть валина поступает вследствие эндогенной секреции или обеспечивается валином рациона.

Кратковременные изменения в метаболизме аминокислот определяются потребностями в энергии и доступностью аминокислот, долговременные же позволяют адаптировать метаболизм белка к структурным изменениям в тканях и потребностям организма. Острые модуляции метаболизма аминокислот, вызванные физической нагрузкой, являются большей частью катаболическими, с отрицательным азотистым балансом и увеличением окисления аминокислот. Степень выраженности этих катаболических процессов определяется типом физической нагрузки. Хотя острые эффекты физической нагрузки являются катаболическими, очевидно, что она не приводит к мышечной слабости, наоборот, регулярная физическая нагрузка необходима для оптимального роста и

гипертрофии мышц. Таким образом, при физической нагрузке происходят последовательные метаболические изменения – от катаболического этапа к анаболическому, с одновременным восстановлением метаболического баланса.

Недостаточное поступление белка в организм ведет к уменьшению уровня большинства свободных аминокислот в плазме. Показана важная роль аминокислот в иммунореактивности организма, которая регулируется: 1) активацией Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров и макрофагов; 2) редокс-потенциалом клетки, экспрессией генов и пролиферацией лимфоцитов; 3) продукцией антител, цитокинов и других цитотоксических соединений. Все больше доказательств того, что добавки в рацион отдельных аминокислот при недостаточности питания или инфекционных заболеваниях повышают иммунный статус, снижая, таким образом, заболеваемость и смертность. Недостаточность питания и инфекционные заболевания являются основными факторами, влияющими на неспецифическую резистентность, рост, репродукцию животных и человека.

Адаптация метаболизма во время беременности включает комплекс взаимодействий между энергообразующими субстратами и метаболизмом азота для поддержания повышенных потребностей матери и растущего плода. Показано, что скорость общего потребления энергии матерью и плодом повышается по мере гестации и параллельно происходит увеличение кинетики энергопродуцирующих субстратов - глюкозы и жирных кислот у матери [188]. Имеется также выраженная корреляция между скоростью продукции глюкозы матерью и массой плода в третьем триместре беременности. Кроме того, нормальная беременность человека и животных сопровождается формированием резистентности к инсулину. Она увеличивается по мере развития беременности [188]. Одновременно уменьшается циркулирующий пул аминокислот, снижается концентрация мочевины в плазме и уменьшается скорость ее экскреции. Скорость синтеза мочевины у беременных снижена [187]. Скорость оборота белка и скорость распада белка не изменяются или снижаются при беременности вплоть до момента родов. При беременности в результате действия

гормонов, цитокинов и других медиаторов изменения в метаболизме азота направлены на его консервацию путем активации синтеза белка в организме матери и плода. Скорость оборота азота лейцина ниже у беременных женщин в первом и третьем триместрах по сравнению с небеременными. Не отмечено существенных изменений в скорости декарбоксилирования лейцина. Скорость реаминирования кетоаминокапроновой кислоты ниже у беременных женщин. Так как синтез мочевины ниже в первом триместре беременности по сравнению с небеременными, эти изменения доказывают, что не всегда скорость декарбоксилирования лейцина позволяет дать правильную оценку скорости окисления белка. Имеется достоверная положительная корреляция между скоростью дезаминирования лейцина и скоростью синтеза мочевины при голодании у беременных и небеременных женщин. Скорость трансаминирования лейцина и синтез мочевины подавлены на ранних стадиях гестации. Эти изменения сопровождаются снижением потока других заменимых аминокислот, таких как серин, глутамин и аланин [189]. Возможно, это отражение снижения протеолиза и следствие перераспределения азота для других синтетических процессов.

У здоровых доношенных новорожденных при голодании повышается в плазме концентрация β -гидроксибутирата. Исследования, выполненные с [^{13}C]-лейцином показали, что скорость декарбоксилирования выше у новорожденных, чем у взрослых, при расчете на кг массы. Энтеральное и парентеральное введение смеси нутриентов подавляет протеолиз, на что указывает снижение скорости появления лейцина в крови. Однако в противоположность взрослым более высокая пропорция лейцина (50% против 20%) захватывается органами желудочно-кишечного тракта при первом прохождении, возможно, для того, чтобы поддержать высокую скорость синтеза белка в этих тканях [254].

При голодании наблюдается положительная корреляция между азотом лейцина и глутамина, поскольку азот лейцина вносит важный вклад в образование глутамина. Напротив, взаимоотношения между потоком глутамина и синтезом мочевины – отрицательные, и отсутствует достоверная

корреляция между потоком азота лейцина и синтезом мочевины. После приема пищи, когда поток азота лейцина повышается, скорость образования глутамин снижается, и корреляция между азотом лейцина и глутамином становится гораздо слабее. Эти данные показывают, что повышение клиренса азота лейцина при энтеральном питании отражает увеличение трансаминирования в тканях внутренних органов, тогда как более низкая скорость образования глутамин отражает периферические изменения.

Данные, полученные при изучение метаболизма лейцина и кинетики азота при беременности, а также у новорожденных, показывают важность взаимоотношений между трансаминированием лейцина, оборотом глутамин и синтезом мочевины. Накопление белка и положительный азотистый баланс сопряжены с подавлением скорости трансаминирования лейцина. Введение нутриента (белок) энтерально или парентерально приводит к более высокой скорости трансаминирования лейцина. Общая скорость трансаминирования лейцина положительно коррелирует со скоростью появления глутамин и скоростью синтеза мочевины при голодании и в состояниях с отрицательным азотистым балансом. Напротив, в ответ на подавление протеолиза парентеральным введением глутамин у маловесных новорожденных и во время сытого состояния у доношенных новорожденных (т.е. ситуации накопления белка), появляется отрицательная корреляция между потоком азота лейцина и его трансаминированием, а также синтезом мочевины. Одной из причин могут быть изменения в цикле пуриновых нуклеотидов, регуляции активности аспаратаминотрансферазы или изменения в аминокислотном пуле как следствие повышенного синтеза белка [190].

Содержание свободных аминокислот в пуповинной крови отражает их поступление плоду. На ранних стадиях эмбрионального развития поступление азота к эмбриону осуществляется в форме пептидов и в гораздо меньшей степени – в форме свободных аминокислот. Однако во второй половине гестации все изменяется обратным образом. Важным является и то, что поступление ряда аминокислот к плоду происходит против градиента концентрации. Между тем, этот процесс подвергается достаточно жесткой регуляции. Так, если даже

потребление азота матерью возрастает в 3 раза, потребление плодом большинства аминокислот изменяется незначительно. Это может отражать адаптацию организма женщины к высокому потреблению белка, ведущего к насыщению тканей азотсодержащими соединениями, а может быть и результатом конкуренции за места транспорта на белках-переносчиках, локализованных на плацентарных мембранах. Интересно отметить, что в подобных ситуациях отмечается повышение потребления только лейцина и изолейцина. Хотя при внутривенном введении беременной смеси аминокислот возрастает пуповинное содержание всех трех разветвленных аминокислот (лейцин, изолейцин, валин), а также фенилаланина и метионина.

Доказано, что из всех аминокислот наибольшей скоростью переноса через плацентарные мембраны обладают именно лейцин, изолейцин и валин. При этом между ними тоже возникают конкурентные отношения за общие транспортные системы. Конкуренция за общий белок-переносчик происходит между треонином и метионином. Более того, если беременной производить инфузию только разветвленных аминокислот, достоверно снижается потребление плодом остальных незаменимых аминокислот. Это может быть связано с аминокислотным дисбалансом в плазме крови женщины, поскольку в последней ситуации уменьшаются уровни лизина и фенилаланина. Эти данные подчеркивают важность рационального питания при беременности, поскольку колебания содержания отдельных аминокислот в крови матери могут негативно влиять на питание плода, уменьшая поступление к нему отдельных аминокислот [184].

При инфузии только АРУЦ их потребление в плаценте значительно увеличивается. Поскольку активность декарбоксилазы разветвленных аминокислот в плаценте низкая, а основным местом их декарбоксилирования является фетоплацентарный комплекс, эти аминокислоты трансаминируются в плаценте и аминокислотная группа используется для образования глутамата. Образующиеся кетокислоты высвобождаются в циркуляцию плода и матери. При уменьшении пуповинного потребления некоторых глюкогенных аминокислот

снижается и продукция глутамата в печени плода [184].

Несмотря на высокую степень потребления плодом АРУЦ, они не стимулируют секрецию инсулина или глюкагона. Лейцин окисляется в тканях плода с достаточно высокой скоростью. Одновременно при введении беременным глицина или аргинина секреция глюкагона у плода повышается. Подобный эффект не отмечается после нагрузки аланином [184].

Заключение. Для синтеза белка необходимо наличие оптимальных концентраций двадцати аминокислот. У здоровых взрослых 9 из этих аминокислот, включая АРУЦ, считаются незаменимыми. Потребность организма в каждой из данных аминокислот для синтеза белка обозначается как суточная потребность в незаменимых аминокислотах. Основная часть поступающих с пищей аминокислот используется для синтеза белка. Для нормального роста и развития необходимо адекватное потребление АРУЦ, и потребление АРУЦ ниже потребностей может лимитировать рост. У взрослых АРУЦ необходимы для сохранения постоянной массы тела. Избыток АРУЦ распадается. Врожденные нарушения метаболизма АРУЦ приводят к тому, что накапливаются избыточные количества АРУЦ (или их производных), которые токсичны для ЦНС. Следовательно, регуляция активности ферментов, катаболизирующих АРУЦ, необходима для регуляции необратимого окисления АРУЦ, особенно при недостаточном потреблении данных аминокислот [116].

В физиологических условиях, которые имеют место при приеме полноценной пищи, аминокислоты, перед тем как достигнуть системной циркуляции, должны пройти через кишечник и печень. Известно, что ткани этих внутренних органов в молодом возрасте используют значительную часть пищевых аминокислот для собственного метаболизма. С возрастом такая экстракция, например, лейцина, повышается. Следовательно, если ткани внутренних органов утилизируют больше аминокислот в пожилом возрасте, поток и доступность пищевых аминокислот для периферических тканей, включая мышцы, должны снижаться, следовательно, анаболический ответ со стороны скелетных мышц будет существенно меньше.

Все пищевые аминокислоты, включая АРУЦ,

абсорбируются эпителиальными клетками кишечника, переносятся в печень по портальной вене и затем высвобождаются в общий кровоток. АРУЦ являются регуляторами белкового синтеза и протеолиза, служат ключевыми предшественниками для синтеза глутамина и аланина. Кроме того, окисление АРУЦ обеспечивает энергией скелетные мышцы. Окисление АРУЦ контролируется конечными продуктами трансаминирования лейцина и изменяется при многих физиологических и патологических состояниях, включая голодание, диабет, онкологические заболевания, сепсис, уремию и инфекционные процессы.

ГЛАВА 2

КАТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ

2.1 Аминотрансфераза разветвленных аминокислот

Печень считается основным органом, осуществляющим окислительное декарбоксилирование захватываемых из крови разветвленных кетокислот. В катаболизме АРУЦ имеются общие ферменты для первых 2 стадий: трансаминирование и последующее декарбоксилирование разветвленных кетокислот. В отличие от других аминокислот, метаболизируемых главным образом печенью, АРУЦ утилизируются в значительном количестве в скелетных мышцах и почках. Следует отметить, что АРУЦ являются единственными аминокислотами, имеющими общие пути катаболизма. Уникальность этих незаменимых аминокислот заключается также в том, что их катаболизм начинается в скелетных мышцах. После приема белковой пищи более 50% АРУЦ, образовавшихся в результате гидролиза белков, проходят через плазматические мембраны энтероцитов и кровеносных сосудов и попадают в кровяное русло. Поскольку скелетные мышцы и другие непаренхиматозные органы являются основным местом потребления этих аминокислот, легко предположить, что АРУЦ должны быть удобным маркером, указывающим на периферическую доступность аминокислот. Кроме того, вероятно, одна или несколько аминокислот этой группы могут обладать функциями клеточного сигнала, указывающего тканям на необходимость увеличения биосинтеза белка или снижения внутриклеточного гидролиза белков с целью сохранения аминокислотного пула в плазме и тканях. Образующиеся в процессе катаболизма АРУЦ глутамат, глутамин и аланин являются основными предшественниками глюкозы в реакциях глюконеогенеза [55, 105, 160, 405, 264, 418].

Поскольку АРУЦ являются незаменимыми аминокислотами, их гомеостаз определяется в значительной степени возможностями последующего окисления в ряде органов, особенно в печени [155]. Первая стадия катаболизма АРУЦ с участием аминотрансферазы разветвленных аминокислот (BCAT), превращающей АРУЦ в разветвленные кетокислоты,

имеет место в мозге, скелетной мышце и многих других внепеченочных тканях [155]. За исключением печени, ферменты, трансаминирующие АРУЦ в большом количестве экспрессируются в тканях организма. За исключением клеток нервной системы, большая часть реакций происходит в митохондриях клетки. Тканеспецифическая экспрессия и регуляция, а также внутриклеточная митохондриальная и цитоплазматическая компартментализация изоферментов аминотрансфераз (BCATm и BCATc) влияет на интра- и межорганый обмен метаболитов АРУЦ, а также рециклинг азота [369].

Катаболизм лейцина, изолейцина и валина начинается с реакций трансаминирования (рис. 2). Специфичная для L-лейцина и других АРУЦ аминотрансфераза (BCAT) локализована в митохондриях и цитоплазме практически всех тканей. Существуют три её изоформы: I и III используют в качестве субстратов все АРУЦ (НФ 2.6.1.42), а форма II (НФ 2.6.1.6) локализована в гепатоцитах и специфична только для L-лейцина [105]. BCATm катализирует первую стадию метаболизма АРУЦ в митохондриальном матриксе большинства тканей, за исключением ЦНС [369]. Аминотрансферазы переносят аминокгруппу с АРУЦ на α -кетоглутарат с образованием глутамата и соответствующей кетокислоты, например, α -кетоизокапроата из лейцина. Аминотрансферазы, которые являются В₆- или пиридоксальфосфат-зависимыми ферментами, функционируют по принципу пинг-понг механизма. В первой части реакции пиридоксальфосфат реагирует с α -аминогруппой АРУЦ. Затем реакция протекает с пиридоксаминовой [пиридоксин монофосфат] формой фермента, высвобождающей соответствующую кетокислоту, α -кетоизокапроат, α -кето- β -метилвалерат или α -кетоизовалерат. Пиридоксин монофосфатная форма фермента затем аминирует вторую кетокислоту, обычно α -кетоглутарат, в результате чего восстанавливается пиридоксальфосфат-фермент и высвобождается глутамат.

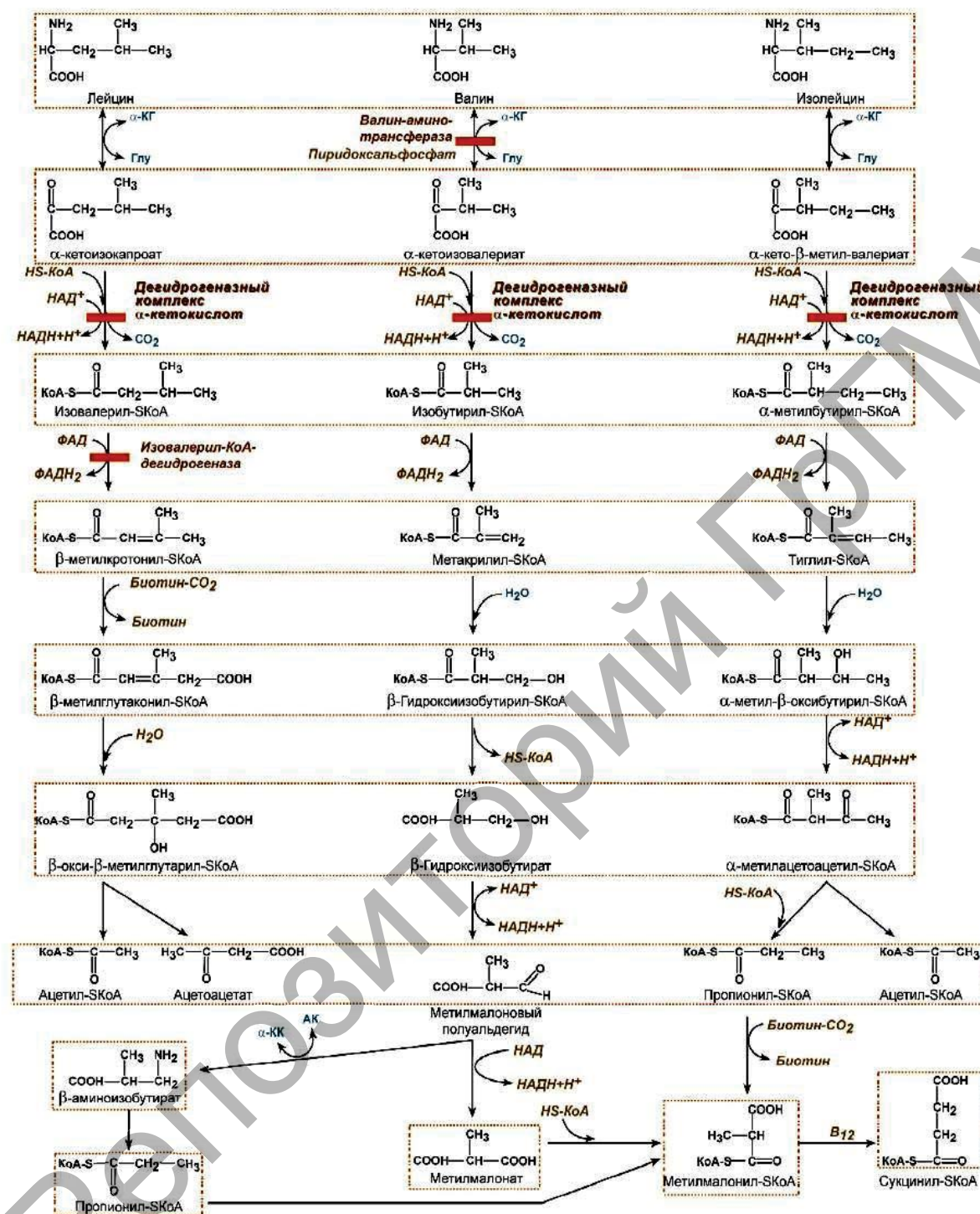


Рисунок 2 – Общая схема катаболизма лейцина, изолейцина и валина

Изоферменты ВСАТ млекопитающих высокоспецифичны для АРУЦ и глутамата, с предпочтением субстратов в следующем порядке: изолейцин $\geq$ лейцин $>$ валин $\gg$ глутамат. Опубликованные кинетические данные для обоих ферментов

человека – ВСАТm и ВСАТс – показывают, что α -кетоглутарат и все разветвленные кетокислоты (ВСКА) являются субстратами для второй половины реакции. Хотя значения K_m указывают, что α -кетоизокапроат у животных является более предпочтительным субстратом по сравнению с двумя другими ВСКА и, особенно при сравнении с α -кетоглутаратом, специфические константы для ВСАТm человека показывают, что α -кетоглутарат является основным субстратом для второй половины реакции. Таким образом, кинетические данные показывают, что ВСКА и глутамат являются основными продуктами реакций, катализируемых ВСАТ. Эти реакции активно протекают в скелетных мышцах и жировой ткани. Затем глутамат трансаминируется с пируватом, образуя аланин и регенерируя кетоглутарат, или глутамат превращается в глутамин. После трансаминирования разветвленные кетокислоты подвергаются необратимому окислительному декарбоксилированию (рис.3).

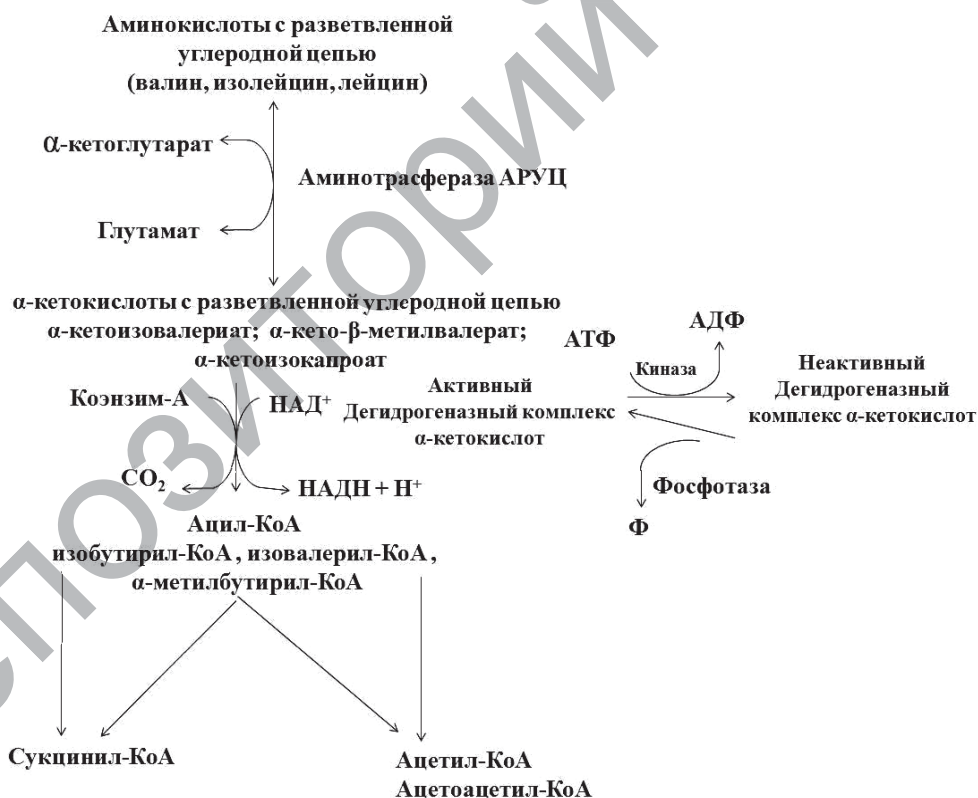


Рисунок 3 – Катаболизм АРУЦ: первые два этапа катаболизма АРУЦ и регуляция дегидрогеназного комплекса разветвленных α -кетокислот
(Vary T., 2007)

Изоферменты ВСАТ – это продукты разных генов [367]. Если у крыс митохондриальный изофермент экспрессируется повсеместно, то цитозольный – только в мозге, яичниках и плаценте. У человека активность фермента в митохондриях различных клеток значительна. Особенно высокая экспрессия регистрируется в толстом кишечнике, почках, скелетной мышце, а очень низкая экспрессия – в печени [367]. В исследованных тканях человека цитоплазматическая активность обнаруживалась только в мозге. Заметная индукция митохондриальной ВСАТ наблюдалась в эпителиальных клетках молочной железы на поздних этапах беременности и при лактации у крыс [380].

Митохондриальный изофермент ВСАТ является основным ферментом, инициирующим катаболизм АРУЦ. Полагают, что осуществляемый в результате метаболизма АРУЦ перенос азота, может играть важную роль в глутаматергических нейронах. Глутамат является основным возбуждающим нейротрансмиттером в ЦНС. При высвобождении в синапсы он инициирует нейротрансмиссию, а затем эффективно захватывается клетками астроглии, которые превращают его с помощью глутаминсинтетазы в глутамин. Амид высвобождается в нейроны, которые содержат глутаминазу, где он обратно превращается в глутамат, завершая цикл (рис. 4). Однако этот цикл не обладает стопроцентной эффективностью и некоторая часть глутамата окисляется в клетках астроглии и соответствующее количество глутамата должно возмещаться, используя анаплеротические механизмы, включающие пируваткарбоксилазную реакцию.

Кетоглутарат, продуцируемый астроцитами и клетками глии в митохондриях, в этом процессе трансаминируется в глутамат митохондриальной ВСАТ. Единственным источником аминокрупп при этом является аммиак, который поставляется при окислении глутамата глутаматдегидрогеназой.

Существуют экспериментальные доказательства существования подобного челнока. Так, в ЦНС митохондриальная ВСАТ является нейрональной, тогда как цитозольная фракция обнаруживается в астроцитах и клетках глии. Габапентин, ингибитор цитоплазматической ВСАТ, ингибирует трансаминирование лейцина и синтез глутамата и

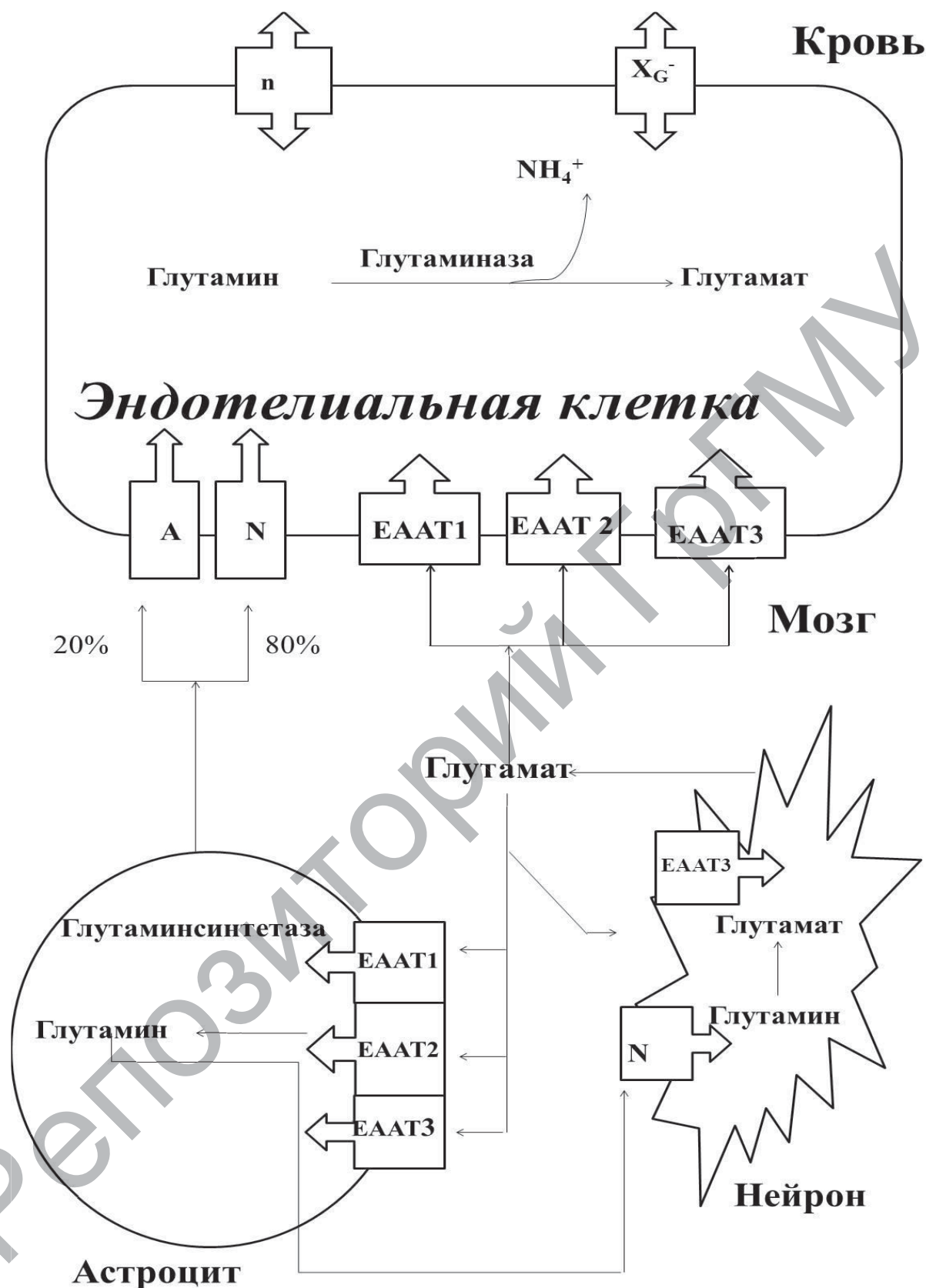


Рисунок 4 – Перенос глутамата и глутамина между астроцитами, нейронами и эндотелиальными клетками. Наличие Na^+ -зависимых переносчиков позволяет перекачивать глутамин и глутамат из клеток мозга в эндотелиальные клетки и стимулировать механизм удаления азота

глутамин *de novo* в препаратах сетчатки крыс [367]. Митохондриальная ВСАТ локализуется совместно с дегидрогеназным комплексом разветвленных кетокислот (BCKDH) (оба высокоэкспрессируемых фермента обнаружены в различных секреторных клетках), тогда как цитозольная ВСАТ находится в клетках, которые не экспрессируют BCKDH. Эта локализация цитозольного фермента, возможно, указывает на его иную функцию, не связанную с окислением АРУЦ.

Определения тканевых концентраций субстратов для ВСАТ и продуктов реакции указывают, что в большинстве клеток ферменты находятся практически в равновесном состоянии. Поскольку в физиологических условиях концентрации тканевого субстрата и продукта находятся около или ниже своих значений K_m , следует ожидать, что ВСАТ быстро изменяет их концентрации, т.е. осуществляет масс-контроль. Обратимость реакции трансаминирования и субстратная специфичность изоферментов ВСАТ (субстратами являются 4 аминокислоты и 4 кетокислоты) также указывает на то, что между АРУЦ и глутаматом не существует промежуточной кетокислоты. Когда использовали для измерения кинетики лейцина и метаболизма белка *in vivo* меченый ^{15}N -лейцин, большая часть метки обнаруживалась в глутамате, но метку также обнаруживали и в других АРУЦ, а также в аминокислотах, которые образовывались путем трансаминирования с глутаматом (аспартат, аланин). Размер тканевого пула глутамата относительно пула АРУЦ должен ограничивать количество повторного включения ^{15}N -метки из глутамата в лейцин за короткий период времени инфузии ^{15}N -лейцина. Например, в мозге пул глутамата большой и соотношение глутамата к общему количеству АРУЦ составляет 30:1 [230]. Степень включения метки из лейцина в другие аминокислоты также может дать информацию об экспрессии аминотрансферазы в ткани. Следовательно, трансаминирование обеспечивает механизм распределения азота АРУЦ согласно тканевым потребностям в глутамате и других заменимых аминокислотах.

Высвобождение кетокислот из одной ткани и реаминирование в различных других тканях обеспечивает механизм переноса азота АРУЦ между органами, тканями и даже

разными типами клеток в пределах одной ткани. Однако только полное окисление и удаление углеродных скелетов приводит к реальному перераспределению азота АРУЦ среди заменимых аминокислот. Следовательно, широкая экспрессия катаболических ферментов АРУЦ необходима для осуществления рециклинга азота, переноса его в различные ткани и клетки.

Как показывает анализ тканевого и органного распределения мРНК митохондриальных и цитозольных изоферментов аминотрансфераз, изоферменты экспрессируются органоспецифически. В большинстве периферических тканей ВСАТm является основным экспрессируемым изоферментом. Его экспрессия, однако, во многом определяется типом и функцией клеток. Фермент обнаруживается в секреторных эпителиальных клетках. Особо активно ВСАТm экспрессируется в ацинарных клетках экзокринной части поджелудочной железы и в париетальных клетках желудка, но практически фермент не обнаруживается в эпителиальных клетках (энтероциты) кишечника. Физиологическое значение метаболизма АРУЦ в пищеварительном тракте неизвестно, но, вероятно, это связано с общим метаболизмом АРУЦ или выполнением лейцином сигнальной функции.

Поскольку трансаминирование АРУЦ происходит в митохондриях, где нарабатывается метаболит цикла Кребса, α -кетоглутарат, создаются все предпосылки для синтеза глутамата. Азот АРУЦ может переноситься с глутамата на аланин или глутамат может превращаться в глутамин, и затем эти аминокислоты высвобождаются в общую циркуляцию. Таким образом, судьба азота АРУЦ в отдельных тканях зависит от степени экспрессии митохондриальных транспортеров глутамата, других трансаминаз, которые используют глутамат в качестве субстрата и от активности глутаминсинтетазы. Однако, поскольку образование глутамата происходит в митохондриях, это истощает концентрации метаболитов цикла Кребса (в первую очередь α -кетоглутарата), которая должна возмещаться из других источников.

Катаболизм АРУЦ способствует активации глюконеогенеза. Синтез аланина из глутамата происходит в митохондриях

скелетных мышц и мозга, но имеет место в цитозоле энтероцитов, клетках толстой кишки и бурой жировой ткани. Аланин в печени, белой жировой ткани и почках может синтезироваться как в цитозоле, так и в митохондриях. Высокие уровни экспрессии в скелетных мышцах аланинаминотрансферазы и ВСАТm указывают, что наиболее эффективный перенос азота АРУЦ на аланин имеет место в митохондриях. Высвобождение из митохондрий аланина и разветвленных кетокислот позволяет сохранять концентрации метаболитов цикла Кребса.

Почему АРУЦ катаболизируются за пределами печени? В печени находятся ферменты полного цикла мочевины, а также катаболические ферменты для большинства аминокислот. Окисление 100 г пищевого белка требует 3,8 моля O_2 в день. Однако печень потребляет только 3 моля O_2 в день, так что если бы даже не происходило потребления других субстратов печенью (т.е. углеводов, липидов, спиртов) было бы невозможно полностью окислить пищевые аминокислоты до CO_2 и H_2O .

Межорганные аспекты катаболизма АРУЦ. Скелетные мышцы не являются глюконеогенным органом. В работе с использованием $[1-^{14}C]$ - и $[U-^{14}C]$ -кетоизокапроата показано, что эта кетокислота почти полностью окисляется в перфузируемом сердце крысы. Специфическим субстратом катаболизма валина является производное КоА (β -гидроксиизобутирил-КоА), который восстанавливается в виде метилмалонового полуальдегида. Возможно, это способ восстановления концентрации метилакрилил-КоА, который является высокореакционным соединением, способным взаимодействовать с аминокислотными остатками белков. β -гидроксиизобутират также является межорганным глюконеогенным субстратом как в гепатоцитах, так и в клетках почек. Изолейцин и валин являются основными источниками углерода для синтеза глутамина в мышце.

Заключение. Способность различных тканей катаболизировать АРУЦ у человека различается. Около половины всего количества аминокислоты фиксируется в скелетных мышцах и достаточно значительная часть – в жировой ткани. После потребления богатой белками пищи АРУЦ

составляют >50% всех аминокислот, поступающих к внутренним органам, при том, что их содержание в самих белках составляет около 20%. Очевидно, что большая часть из них подвергается катаболизму. Скелетные мышцы являются основным местом катаболизма АРУЦ.

Метаболизм АРУЦ характеризуется рядом особенностей. Известно, что производные всех аминокислот выполняют те или иные регуляторные функции (например, в синтезе белка, секреции инсулина, транспорте соединений в мозг и т.д.), но АРУЦ не метаболизируются в биологически активные молекулы (гормоноподобные соединения, нейромедиаторы или нейротрансмиттеры). Среди всех аминокислот только катаболизм лейцина, изолейцина и валина имеет две общие стадии. Поступающие с пищей АРУЦ практически не метаболизируются в печени. Перенос аминогруппы на α -кетоглутарат с образованием соответствующей разветвленной кетокислоты и глутамата является первой стадией в деградации АРУЦ. АРУЦ аминотрансфераза катализирует полностью обратимую реакцию и, следовательно, не приводит к деградации АРУЦ.

Трансаминирование АРУЦ можно рассматривать как механизм, позволяющий использовать аминогруппы лейцина, изолейцина и валина для нужд клетки, посредством образования глутамата и других заменимых аминокислот. Внутриклеточная компарментализация изоферментов аминотрансфераз разветвленных кислот (митохондриальная и цитозольная локализации) влияет на интра- и межорганный обмен метаболитов АРУЦ, участвуя в формировании цикла азота в организме (рис. 5).

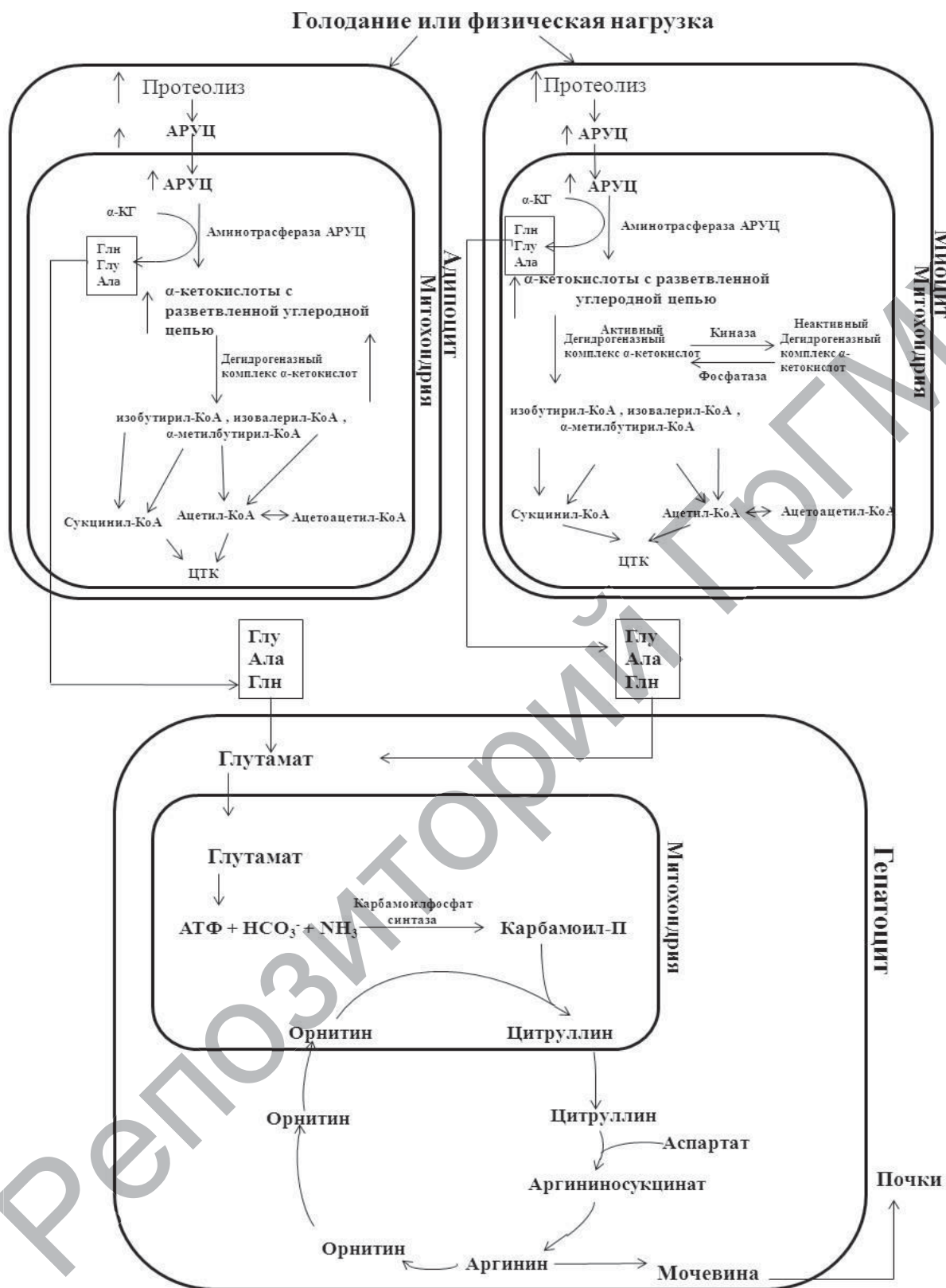


Рисунок 5 – Формирование цикла азота в тканях организма

2.2 Окислительный катаболизм кетокислот с разветвленной углеродной цепью

Дегидрогеназа кетокислот с разветвленной углеродной цепью (BCKDH) во многом подобна пируватдегидрогеназному комплексу. Эти два больших мультиферментных комплекса локализованы в митохондриальном матриксе. Их компоненты E1 и E2 катализируют однотипные реакции и требуют одинаковых коферментов. В обоих комплексах одинаковый компонент E3 и регуляция их осуществляется однотипно, включая ковалентную модификацию. Больше известно о регуляции пируватдегидрогеназы, поскольку она играет центральную роль в углеводном обмене. Однако многое из того, что известно о пируватдегидрогеназе, можно отнести и к BCKDH, хотя имеются и фундаментальные различия в особенностях регуляции, обусловленные прежде всего выполняемой функцией [328].

Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса

Детерминирующим фактором, регулирующим образование аланина и лактата из пирувата, является активность пируватдегидрогеназного комплекса. Ферменты пируватдегидрогеназного комплекса катализируют первую, необратимую реакцию митохондриального окисления глюкозы. Пируват подвергается окислительному декарбоксилированию в присутствии НАД⁺ и CoASH с образованием ацетил-КоА, НАДН и CO₂. Регуляция комплекса является чрезвычайно важной для гомеостаза глюкозы, поскольку связывает гликолиз с ЦТК и продукцией АТФ митохондриями. Окисление пирувата снижает уровень глюкозы в организме, а поскольку глюкоза не может быть синтезирована из ацетил-КоА, то пируватдегидрогеназная реакция физиологически необратима. Следовательно, активность пируватдегидрогеназы детерминирует: будет ли пируват окисляться до CO₂ или превратится в лактат при участии лактатдегидрогеназы, или в аланин с помощью аланинаминотрансферазы [234].

Поток пирувата через пируватдегидрогеназу контролируется с помощью целого ряда механизмов. Общая активность комплекса ингибируется конечными продуктами реакции, а также с помощью обратимого фосфорилирования.

Основной формой регуляции пируватдегидрогеназного комплекса и преимущественным механизмом, контролирующим окисление глюкозы при голодании или диабете *in vivo*, является механизм фосфорилирования/дефосфорилирования. Пируватдегидрогеназный комплекс инактивируется фосфорилирующей киназой, тогда как фосфатаза дефосфорилирует комплекс и реактивирует фермент. Киназа и фосфатаза пируватдегидрогеназного комплекса постоянно активны и их соотношение определяет количество активной и неактивной формы фермента. Снижение потока через пируватдегидрогеназный комплекс – результат повышенного количества неактивной (фосфорилированной) формы фермента. Инактивация пируватдегидрогеназы лимитирует окисление пирувата, образующегося при гликолизе, и, следовательно, способствует повышению продукции лактата и аланина (рис. 6).

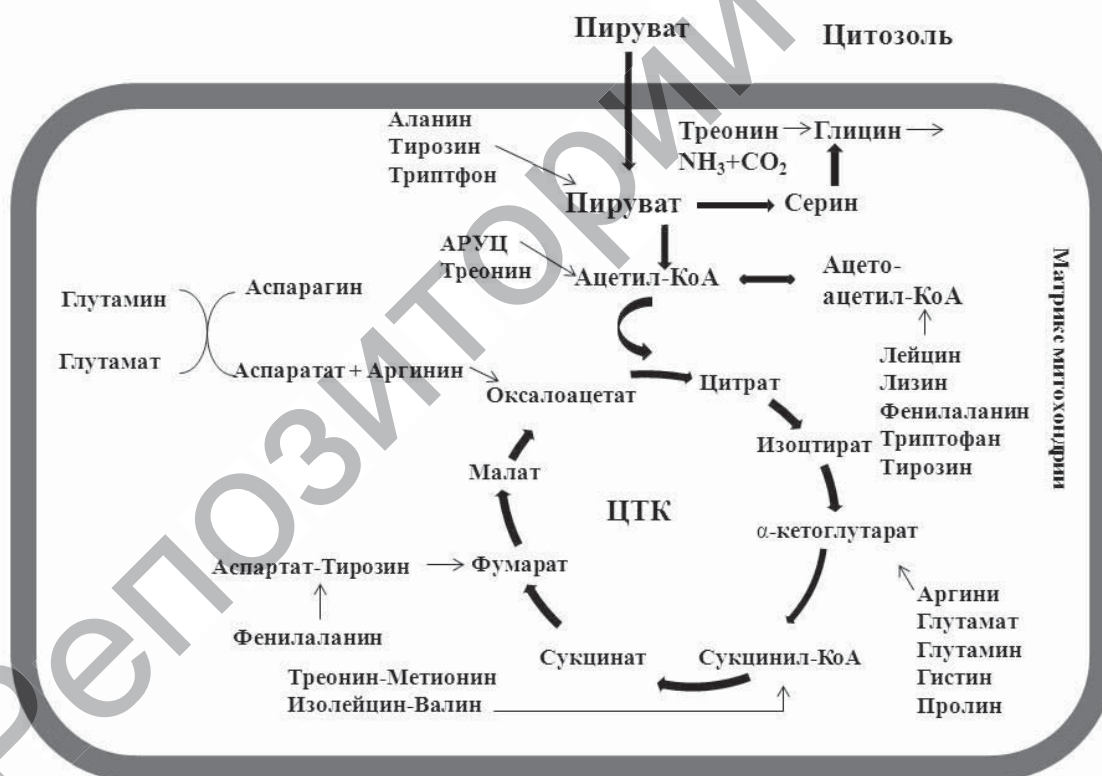


Рисунок 6 – Аминокислоты распадаются до соединений, которые могут метаболизироваться в ЦТК до CO_2 и H_2O или использоваться в процессе глюконеогенеза. Аминокислоты окисляются с образованием одного из семи промежуточных продуктов метаболизма (пируват, α -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат, ацетил-КоА или ацетоацетат)

Ускорение окисления жирных кислот повышает митохондриальное соотношение ацетил-КоА/КоАШН и НАДН/НАД [18], что ведет к стимуляции киназы. В других условиях активность пируватдегидрогеназы может быть повышена снижением концентрации жирных кислот или ингибированием окисления жирных кислот. При голодании и диабете активное окисление жирных кислот снижает активность пируватдегидрогеназы дополнительно к стабильно повышенной активности киназы. Активация киназы пируватдегидрогеназного комплекса наблюдалась и в условиях *in vitro*, где окисление жирных кислот отсутствовало. Помимо увеличения специфической активности киназы в самом комплексе, повышалась экспрессия фермента [169].

Существуют генетически различные изоферменты киназы пируватдегидрогеназы (киназы 1, 2, 3 и 4). Все члены этого семейства содержат консервативные цепочки, которые, вероятно, и образуют киназный домен. Экспрессия этих киназ-изоферментов имеет тканеспецифический характер. мРНК киназы 1 локализована исключительно в сердце и островках поджелудочной железы. Локализация киназы 3 ограничена почками, мозгом и семенниками. мРНК киназы 2 обнаруживалась во всех изученных тканях, но ее количество было низким в селезенке и легких. мРНК для киназы 4 преимущественно экспрессировалась в скелетной мышце и ткани сердца. Специфические активности изоферментов различаются до 25 раз, от 50 нмоль/мин/мг белка для киназы 2 до 1250 нмоль/мин/мг белка для киназы 3 (киназа 1 → 650 нмоль/мин/мг белка, киназа 4 → 400 нмоль/мин/мг белка). Изоферменты различаются также по своей способности терять активность под влиянием дихлорацетата ($2 > 4 > 1 > 3$), по способности активироваться НАДН ($4 > 1 = 2 > 3$) и по своей возможности активироваться ацетил-КоА ($2 > 1 > 4 = 3$). *In vivo* показано, что сверхэкспрессия киназы 2 инактивирует пируватдегидрогеназу в сердечной мышце [156].

Киназа 4 повышает свою активность в большинстве тканей при голодании, гормональном дисбалансе (сахарный диабет, гипертиреозидизм) и инсулинорезистентности, но не при старении. Среди факторов, регулирующих киназу 4, вероятно, особенно важны окисление жирных кислот и уровень инсулина.

Экспрессия киназы 4 прямо или опосредованно регулируется пероксисомальным пролифератор-активируемым рецептором- α (PPAR- α). Недостаточность PPAR- α ограничивает повышение киназы 4 в печени и почках при голодании. Введение селективных агонистов PPAR- α индуцирует существенное увеличение активности киназы, киназного белка и мРНК киназы 4 в скелетной мышце. Поскольку длинноцепочечные кислоты являются эндогенными активаторами PPAR- α , увеличение их уровня при голодании и сахарном диабете может свидетельствовать о повышении экспрессии киназы 4 в скелетной мышце [67].

Участие пируватдегидрогеназы в регуляции глюконеогенеза

Сохранение концентрации глюкозы в плазме обеспечивается гликогенолизом и глюконеогенезом. Глюконеогенезом называется процесс образования глюкозы из неуглеводных предшественников. Для глюконеогенеза трехуглеродные фрагменты преимущественно поставляются лактатом, глицеролом и аминокислотами. Аминокислоты высвобождаются из периферических тканей в ответ на ингибирование пируватдегидрогеназы и вследствие ускорения протеолиза.

Пируватдегидрогеназа занимает центральное место в утилизации пирувата для энергетических целей и для глюконеогенеза. Инактивация ферментативного комплекса происходит вслед за повышением активности киназы, что способствует глюконеогенезу при голодании или диабете, ограничивая окисление пирувата, и тем самым сохраняя трехуглеродные фрагменты. Это помогает поддерживать уровень глюкозы при голодании, но негативно влияет на метаболическую ситуацию при сахарном диабете, индуцируя развитие гипергликемии. Поступление субстратов в печень и почки стимулируется снижением в плазме уровня инсулина или развитием инсулинорезистентности вследствие постоянно повышенного в плазме уровня липидов. Липиды понижают активность пируватдегидрогеназы вследствие увеличения соотношения ацетил-КоА/КоASH и экспрессии киназы-4. Липид-активируемый фактор транскрипции и PPAR- α играют важнейшую роль в метаболическом ответе клетки на жирные

кислоты. При голодании и сахарном диабете в печени снижение концентрации инсулина, повышенные концентрации жирных кислот и глюкокортикоидов посредством изменения уровня PPAR- α способствуют экспрессии гена киназы-4. Сниженный уровень инсулина, возможно, является основной причиной повышения уровня мРНК киназы 2 при голодании и сахарном диабете. Специфическое увеличение экспрессии белка киназы-4 при голодании, сохраняя низкой активность пируватдегидрогеназы, облегчает карбоксилирование пирувата в оксалоацетат и, следовательно, окисление ацетил-КоА, образующегося при β -окислении жирных кислот, в ЦТК. Активация пируватдегидрогеназы дихлорацетатом уменьшает высвобождение аланина и лактата, прерывая цикл Кори и аланиновый цикл, что снижает доступность трехуглеродных предшественников для глюконеогенеза [234]. Дихлорацетат ингибирует биосинтез триглицеридов и холестерина в печени. Назначение дихлорацетата пациентам с инсулиннезависимым сахарным диабетом заметно снижает концентрации циркулирующих ЛОНП и триглицеридов. Дихлорацетат метаболизируется в глиоксилат, который превращается в оксалат и, в присутствии достаточных количеств тиамина, в другие токсичные для человека метаболиты. Следовательно, хроническое использование дихлорацетата при диабете или гиперлиппротеинемиях ограничено его токсичностью [67, 328].

Фосфатаза пируватдегидрогеназного комплекса

Активация пируватдегидрогеназного комплекса путем дефосфорилирования осуществляется двумя генетически различными изоферментами фосфатаз – фосфатазой 1с и фосфатазой 2с. Между собой они существенно различаются по биохимическим свойствам и клеточному распределению. Фосфатаза 1с в значительном количестве экспрессируется в сердце, мозге и семенниках крысы и в меньшем – в мышце, легких, почках, печени и селезенке, тогда как фосфатаза 2 экспрессируется в основном в почках, печени, сердце, мозге и значительно меньше – в селезенке и легких. Каталитической субъединицей фосфатазы 1с является Mg^{2+} -зависимая протеинфосфатаза, гетеродимер, который собственно и регулирует активность пируватдегидрогеназного комплекса.

Активность фосфатазы 1с сильно зависит от присутствия ионов Ca^{2+} и компонента пируватдегидрогеназного комплекса E2. Напротив, активность фосфатазы 2с мало зависит от ионов Ca^{2+} или компонента E2. Одновременно она чувствительна к полиамину спермину. Как и фосфатаза 1с, фосфатаза 2с является Mg^{2+} -зависимым ферментом, но ее чувствительность к ионам Mg^{2+} почти в 10 раз ниже, чем фосфатазы 1с. Спермин повышает чувствительность фосфатазы 2с к Mg^{2+} . Как фосфатаза 1с, так и фосфатаза 2с могут эффективно дефосфорилировать все три сайта фосфорилирования, локализованных на α -цепи компонента E1. Голодание и сахарный диабет снижают количество мРНК фосфатазы 2, содержание белка фосфатазы 2 и активность фосфатазы в сердце и почках крысы. Последующее кормление или введение инсулина при голодании или сахарном диабете реингибирует эти эффекты [169, 234].

Роль пируватдегидрогеназного комплекса в сепсис-индуцированном гиперметаболизме

Тяжелая травма и сепсис инициируют паттерн физиологических и метаболических изменений, характеризующийся повышенным потреблением кислорода и изменениями в углеводном, липидном и белковом обмене. Ответ организма на сепсис характеризуется быстрым распадом резервных белков и углеводов, повышенной зависимостью от β -окисления жирных кислот. Степень метаболического дисбаланса однозначно указывает на существование полиорганной дисфункции, индуцированной инфекцией или травмой. Сепсис изменяет межорганный поток субстратов, вызывая сильнейший ответ со стороны физиологических механизмов, ответственных за сохранение метаболического гомеостаза. Двумя наиболее ранними и наиболее выраженными проявлениями органной дисфункции при сепсисе является массивная экскреция мочевины в результате формирования существенного отрицательного азотистого баланса и изменения кинетики глюкозы, что приводит к гипергликемии.

У пациентов с сепсисом окисление глюкозы в организме ингибируется и оборот глюкозы повышается. Сепсис способствует развитию гликемии, стимулируя продукцию глюкозы, и одновременно является наиболее частой причиной

лактацидоза. Лактат поставляет 60-70% углерода для синтеза глюкозы. Экстракция печенью лактата при тяжелых инфекционных заболеваниях повышается в 2-3 раза. Скелетные мышцы, благодаря своей массе, являются основным источником глюконеогенных субстратов. Сепсис резко повышает периферическую утилизацию глюкозы, так что метаболический клиренс глюкозы повышается в 2 раза относительно контрольных значений. При системном инфекционном процессе потребление скелетными мышцами глюкозы повышается. Стимуляция потребления глюкозы не связана с повышенным накоплением гликогена. Ускоряется гликолиз с последующим высвобождением лактата и аланина из скелетных мышц. Повышенная продукция лактата скелетными мышцами обеспечивает необходимое количество предшественников для синтеза глюкозы и поддерживает глюконеогенез при сепсисе. Более того, продукция лактата значительно превышает возможности его утилизации, что увеличивает его концентрацию в плазме. Существующая сильная корреляционная связь между уровнем лактата в артериальной крови и скоростью образования глюкозы подтверждает то, что именно лактат является важным детерминантом глюконеогенеза.

В противоположность катаболизму белков изменение субстратного потока в печени модулирует метаболизм глюкозы в скелетных мышцах. Следовательно, повышенное образование глюкозы и клиренс глюкозы зависят от повышенной продукции скелетными мышцами лактата и аланина. Считают, что повышенные концентрации лактата в плазме являются прогностическими маркерами тяжелого заболевания и/или гибели пациентов при сепсисе.

Лактат образуется при восстановлении пирувата. Продукция лактата усиливается тогда, когда продукция пирувата в результате гликолиза, или из других источников, превышает возможности окисления глюкозы в митохондриях. Следовательно, окисление глюкозы должно снижаться при увеличении глюконеогенеза и диверсифицировать поступление пирувата для образования лактата, что является физиологически важным в регуляции уровня лактата в плазме.

Митохондрии, выделенные из скелетной мышцы крыс с сепсисом, характеризуются сниженной способностью окислять пируват, но не другие субстраты, включая жирные кислоты. Это позволяет предположить, что пируватдегидрогеназа ингибирована. Торможение пируватдегидрогеназного комплекса является следствием повышенного соотношения ацетил-КоА/КоАШ из-за ускоренного окисления жирных кислот. Существует обратная корреляция между концентрациями лактата в плазме и количеством активной дефосфорилированной формы пируватдегидрогеназы в скелетных мышцах. Активация комплекса введением дихлорацетата, неконкурентного ингибитора киназы пируватдегидрогеназы, нормализует концентрации лактата и аланина в плазме и ингибирует продукцию лактата и аланина скелетными мышцами при сепсисе [169, 328].

Потенциальные благоприятные эффекты пирувата

Ингибирование пируватдегидрогеназы и последующая гиперлактатемия и гипераланинемия при различных метаболических состояниях позволяют предположить возможность использования ингибиторов киназы пируватдегидрогеназы с целью модуляции метаболизма. Действительно, активация пируватдегидрогеназы улучшает сердечную функцию и повышает жизнеспособность при геморрагическом шоке. Однако после активации пируватдегидрогеназы не улучшается гемодинамика, несмотря на снижение концентрации лактата в плазме и повышение рН артериальной крови.

Повышенное содержание в клетке пирувата ингибирует киназу пируватдегидрогеназы. Кроме того, пируват может действовать как эндогенный антиоксидант и скэвенджер свободных радикалов, что дало повод использовать его при некоторых патологических состояниях. Полезность пирувата как терапевтического агента нивелируется его плохой устойчивостью в растворах. Водные растворы пирувата быстро подвергаются индольной конденсации с образованием 2-гидрокси-2-метил-4-кетоглутарата (парапирувата), – соединения, являющегося сильным ингибитором ЦТК.

Этилпируват, стабильное производное пирувата, решает проблемы использования водных растворов пирувата. Введение этилпирувата может уменьшать повреждение хрусталика свободными радикалами. Показано его благоприятное действие при инсульте. Введение раствора этилпирувата улучшает выживаемость животных в моделях геморрагического шока или ишемии миокарда, острой эндотоксемии и бактериального перитонита, сепсисе, индуцированном почечной недостаточностью. Протективное действие может быть обусловлено повышением продукции АТФ из пирувата или не-метаболическими эффектами (противовоспалительными) и подавлением активности провоспалительных генов. Противовоспалительные эффекты этилпирувата также могут осуществляться через ингибирование ядерного фактора каппа В.

Роль пируватдегидрогеназы при раке простаты

Секрет простаты содержит кальций, цитрат, фосфат, ферменты и фибринолизин. Предстательная железа является уникальным органом, накапливающим и секретирующим чрезвычайно большие количества цитрата. Эпителиальные секреторные клетки простаты синтезируют цитрат, который вследствие недостаточного количества аконитазы накапливается, а не окисляется. Таким образом, цитрат становится неотъемлемым конечным продуктом метаболизма в простате. Для продукции цитрата необходим постоянный приток оксалоацетата и ацетил-КоА. Именно окисление глюкозы до пирувата является источником ацетил-КоА.

Производство цитрата регулируется тестостероном и/или пролактином. Оба гормона селективно регулируют уровень и активность компонента пируватдегидрогеназы E1- α , таким образом регулируя доступность ацетил-КоА для синтеза цитрата. На этот процесс влияют тестостерон и пролактин, которые модулируют экспрессию генов, ассоциированных с данными митохондриальными ферментами. Регуляция специфических генов тестостероном и пролактином является характерной для клеток простаты и, вероятно, осуществляется посредством сигнальных механизмов с участием протеинкиназы С. При раке простаты способность опухолевых клеток секретировать цитрат тормозится, в то время как продукция цитрата является

характерной для гиперплазии простаты. Эти заболевания можно рассматривать как пример уникальной регуляции митохондриальной функции путем регуляции экспрессии генов ключевых регуляторных ферментов, которые находятся под гормональным контролем [156, 234, 328].

Дегидрогеназный комплекс кетокислот с разветвленной углеродной цепью (BCKDH)

Мультиферментный комплекс дегидрогеназы разветвленных кетокислот катализирует скорость-лимитирующую стадию и является первой необратимой стадией в окислении лейцина, изолейцина и валина. Очевидно, что этот комплекс является наиболее важным регуляторным ферментом в катаболизме АРУЦ. Реакция превращает разветвленные кетокислоты (кетоизокапроат) в производные КоА (такие как изовалерил-КоА). Комплекс состоит из 12 дегидрогеназ разветвленных кетокислот (E1) и 6 дигидролипоилдегидрогеназ (E3), нековалентно ассоциированных с ядром из 24 дигидролипоилтрансацилаз (E2) [155]. Таким образом, комплекс содержит декарбоксилазу (E1, которая имеет $\alpha_2\beta_2$ структуру с ковалентно связанным кофактором – тиаминпирофосфатом), дигидролипоилтрансацилазу (E2, которая имеет ковалентно связанную липоевую кислоту) и флавин-связывающую дигидролипоилдегидрогеназу (E3). Активность митохондриальной BCKDH определяет скорость окисления углеродных скелетов АРУЦ (необратимые потери), которые эквивалентны скорости чистого переноса азота от АРУЦ к глутамату.

Мультикомпонентный ферментный комплекс (помимо трех ферментов) содержит ассоциированные киназу и фосфатазу. Киназа дегидрогеназы кетокислот с разветвленной углеродной цепью также связана с комплексом E2. Киназа инактивирует комплекс фосфорилированием субъединицы гетеротетрамера ($\alpha_2\beta_2$) E1. Удаление фосфатов из E1 (фосфатаза BCKDH) активирует комплекс. Регуляция активности киназы и фосфатазы BCKDH необходима для сохранения АРУЦ при их недостаточности и, напротив, для удаления АРУЦ при избытке (рис. 7) [155].

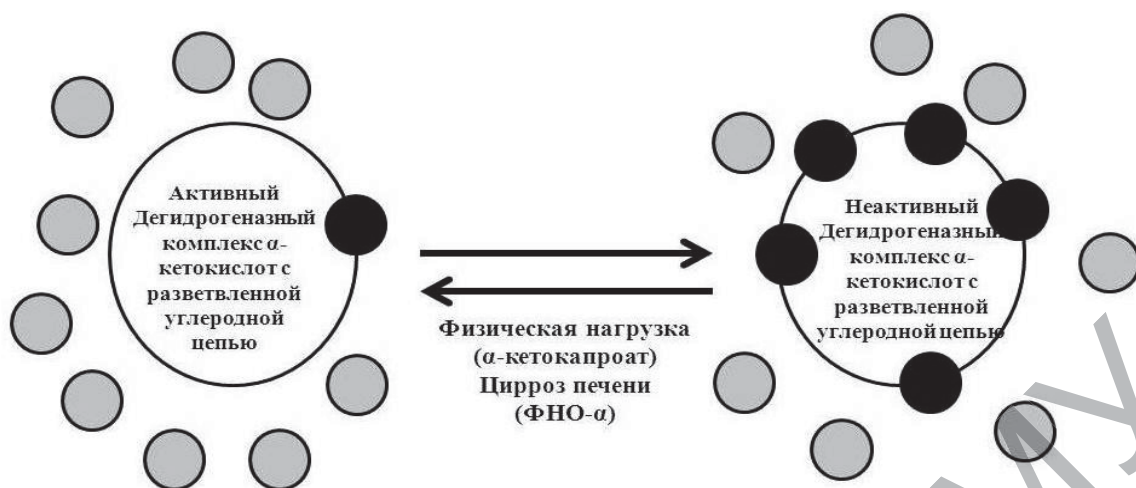


Рисунок 7 – Активация дегидрогеназного комплекса α-кетокислот с разветвлённой углеродной цепью. Серые кружки обозначают свободную форму киназы; черные кружки обозначают связанную форму киназы

Образующийся из лейцина кетонизокапроат ингибирует киназу дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот и уменьшает уровень ее экспрессии. Киназа фосфорилирует E1α субъединицу комплекса по двум сайтам. Лиганды для PPAR-α вызывают активацию комплекса одновременно со снижением киназной активности, что указывает на то, что более высокая скорость β-окисления жирных кислот стимулирует катаболизм АРУЦ. Меньше известно о фосфатазе, но показаны ее митохондриальная локализация и участие в регуляции активности комплекса.

Поскольку митохондриальная аминотрансфераза разветвленных аминокислот не экспрессируется в печени, АРУЦ, образовавшиеся из пищевого белка, минуют первую фазу катаболизма в печени. Это может быть причиной быстрого увеличения уровня лейцина в плазме после приема пищи и способствует оптимизации сигнальной функции лейцина в периферических тканях [418]. Изменения экспрессии печеночной киназы BCKDH наблюдаются при изменении потребления белка или колебаниях содержания тиреоидных гормонов в плазме [155].

Мутации в одной или нескольких субъединицах комплекса BCKDH приводят к врожденному нарушению метаболизма, болезни мочи с запахом кленового сиропа (MSUD), которая

характеризуется повышенными уровнями в плазме АРУЦ и разветвленных кетокислот.

Как уже указывалось, комплексы BCKDH и пируватдегидрогеназы гомологичны по составу субъединиц и механизмам регуляции. Как и пируватдегидрогеназный комплекс, холофермент BCKDH содержит 24 копии каталитических субъединиц E2/E3 и равное количество регуляторных субъединиц E1 α и E1 β . При низких уровнях АРУЦ, E1 α гиперфосфорилируется киназой BCKDH, что уменьшает активность BCKDH и тормозит окисление (потерю организмом) АРУЦ. Киназа BCKDH фосфорилирует субъединицу E1 α BCKDH по двум сайтам, называемым сайтами 1 и 2 [311]. Показано [418], что именно фосфорилирование на сайте 1 [крысиная E1 α - Ser293 (S293 α)] ингибирует активность BCKDH. Важность киназы BCKDH в регуляции активности комплекса показана на нокаутных мышах, у которых активность BCKDH и катаболизм АРУЦ повышались во всех тканях, за исключением печени, что приводило к существенному снижению концентрации АРУЦ в плазме и тканях [182].

Скорость ферментативного процесса и интенсивность утилизации L-лейцина определяется характером питания: на высокожировом рационе после физической нагрузки активность BCKDH комплекса в печени крыс значительно выше, чем у животных, получавших богатую углеводами пищу [264]. Обнаружено, что активность печеночной BCKDH у мышей ob/ob снижена, и это ассоциируется с повышенным фосфорилированием субъединицы E1 α BCKDH. Количество активной формы печеночной BCKDH значительно уменьшается при содержании животных на низкобелковом рационе, при 48-часовом голодании, аллоксановом диабете [55, 264, 311]. Тиреоидные гормоны индуцируют экспрессию киназы BCKDH [284]. Инсулин повышает экспрессию киназы BCKDH в клетках печени [291], что, возможно, связано с повышенной экспрессией киназы BCKDH при ожирении и метаболическом синдроме. Хотя в клетках печени мышей ob/ob имеет место выраженная инсулинорезистентность, чувствительность липидного обмена к инсулину сохраняется [284], чего нельзя исключить и в отношении регуляции экспрессии киназы BCKDH.

Клофибровая кислота оказывает выраженное влияние на активность ВСКДН и активность киназы. Представители семейства фибратов хорошо известны по своей способности снижать уровень липидов в крови и повышать количество пероксисом в печени. Однако данные соединения одновременно стимулируют катаболизм АРУЦ и вызывают мышечную слабость. Причиной развития мышечной слабости является повышение катаболизма АРУЦ, что ограничивает участие этих аминокислот в биосинтезе белка. В ингибировании активности дегидрогеназного комплекса задействованы как быстрые, так и медленные механизмы, – возможно, из-за схожести в структуре с α -кетоизокапроатом, природным ингибитором киназы. Активация ВСКДН происходит в течение нескольких минут в перфузируемом сердце крысы и скелетной мышце крысы *in vivo*, что подтверждает прямое ингибирование киназы дегидрогеназы клофибровой кислотой.

Поскольку клофибровая кислота оказывает свои долговременные эффекты путем активации PPAR α , этот транскрипционный фактор может регулировать экспрессию гена киназы. Следовательно, можно предположить, что и другие лиганды PPAR α способны регулировать экспрессию этого регуляторного фермента. Поскольку жирные кислоты являются природными лигандами PPAR α , повышение уровня жирных кислот, имеющее место при голодании или сахарном диабете, может тормозить экспрессию печеночной киназы дегидрогеназы и вызывать активацию дегидрогеназы разветвленных кетокислот в этих метаболических условиях.

Клобифрат, хорошо известное соединение, обладающее антигиперлипидемическими свойствами, является ингибитором киназы и существенно активирует дегидрогеназный комплекс в скелетной мышце и печени [355]. Известно, что длительное введение крысам клофибрата вызывает миопатию и снижает содержание белка в скелетной мышце [347]. Эти данные доказывают, что при длительной активации ВСКДН стимулируется окисление АРУЦ, но снижается скорость биосинтеза белка. Следовательно, низкая активность дегидрогеназного комплекса в скелетной мышце является

важным условием полноценного восстановления белков скелетных мышц.

Все разветвлённые α -кетокислоты ингибируют активность протеинкиназы BCKDH. Считается, что увеличение концентрации L-лейцина в тканях одновременно с повышением уровня α -кетоизокапроата активирует данный комплекс. Одновременно кетоизокапроат изменяет уровень экспрессии киназы. Это подтверждается данными об активации комплекса после употребления с пищей избыточных количеств белка [55], стимуляцией в культуре гепатоцитов процессов декарбоксилирования α -кетоизокапроата при добавлении в среду L-лейцина, или у животных – вследствие внутривенного введения L-лейцина [284].

При большинстве физиологических состояний количество свободной киназы в митохондриальных экстрактах печени крысы превышает количество связанной с BCKDH комплексом. На количество общей киназы мало влияет изменение физиологических условий [106], указывая на то, что скорее связанная, а не свободная форма киназы, ответственна за фосфорилирование и инактивацию комплекса.

Полное голодание и белковое голодание оказывают противоположное влияние на активность дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот, а также на активность ее киназы. Полное голодание вызывает активацию печеночной дегидрогеназы у животных, у которых комплекс обычно фосфорилирован и находится в неактивном состоянии. При полном голодании активность киназы дегидрогеназы снижается, указывая на влияние факторов, вызывающих торможение ее экспрессии.

Экспериментальный сахарный диабет у крыс повышает активность печеночной дегидрогеназы разветвленных кетокислот, которая коррелирует со снижением активности киназы дегидрогеназы и количества ферментного белка. Некоторые гормоны, особенно инсулин, глюкокортикоиды, тиреоидные гормоны, женские половые гормоны также влияют на экспрессию и активность киназы. Крысы-самки редко используются в экспериментах вследствие заметных различий в регуляции дегидрогеназного комплекса разветвленных

кетокислот, что указывает на роль эстрогенов в регуляции активности киназы дегидрогеназы. Показано, что циклические изменения активности печеночного BCKDH наблюдаются у самок, но не у самцов. В начале светового цикла большая часть комплекса дефосфорилирована и активна как у самцов, так и у самок. В конце же светового периода большая часть комплекса, напротив, фосфорилирована и неактивна у самок, тогда как большая часть остается дефосфорилированной и активной у самцов. Механизм, участвующий в изменении активности киназы дегидрогеназы на протяжении светового цикла, специфичен для самок. Повышение количества белка киназы дегидрогеназы, ассоциированной с комплексом, является основной причиной увеличения активности. Гонадэктомия предупреждает колебания активности фермента в течении оварийного цикла у самок крыс, доказывая участие половых гормонов в этом механизме.

Уровень печеночной киназы дегидрогеназы резко снижается при кормлении крыс низкобелковым рационом и одновременном введении синтетического глюкокортикоида дексаметазона. Введение дексаметазона приводит к снижению уровня мРНК киназы, что повышает активность дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот в клетках гепатомы крыс H4IIE, указывая, что снижение активности киназы дегидрогеназы является следствием down-регуляции экспрессии фермента. Поскольку стероидные гормоны не влияют на период полусуществования мРНК киназы, регуляция, вероятно, осуществляется на уровне транскрипции гена. Ген киназы дегидрогеназы разветвленных кетокислот крысы клонирован и частично охарактеризован.

Известно, что глюкокортикоиды стимулируют глюконеогенез. Поскольку две из трех АРУЦ (изолейцин и валин) являются гликогенными аминокислотами, превращение дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот в свою активную форму подавлением активности (количества) киназы дегидрогеназы должно повышать обеспеченность глюконеогенеза субстратами. Следовательно, увеличение концентрации кортикостерона в плазме, которое наблюдается при голодании и сахарном диабете, вероятно, важный фактор

снижения экспрессии киназы дегидрогеназы при этих метаболических состояниях.

Имея в виду различия в метаболизме углеводов и белков, не удивительно, что глюкокортикоиды оказывают противоположные эффекты на пируватдегидрогеназу и дегидрогеназу разветвленных кетокислот и экспрессию их соответствующих киназ. Так, дексаметазон вызывает заметное увеличение уровня киназы пируватдегидрогеназы в клетках гепатомы крысы. Эта реакция быстрая, зависит от концентрации гормона, блокируется антагонистами глюкокортикоидов и быстро прекращается в случае удаления глюкокортикоидов из инкубационной среды. Повышенная экспрессия киназы пируватдегидрогеназы объясняется необходимостью инактивации пируватдегидрогеназы для сохранения трехуглеродных соединений (лактат, пируват, аланин) для глюконеогенеза [154].

Гипертиреозидизм, вызываемый у крыс введением тиреоидного гормона (Т3; 3,5,3'-трийодтиронин), резко снижает активность дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот в печени. Повышение концентрации Т3 вызывает увеличение активности киназы дегидрогеназы, количества белка и мРНК, указывая, что ингибирование дегидрогеназного комплекса осуществляется именно в результате индукции киназы дегидрогеназы. У крыс с гипертиреозидизмом содержание разветвленных кетокислот в митохондриях не изменяется, что делает маловероятным их участие в ингибировании дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот. Гипертиреозидизм также не влияет на активность дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот в скелетной мышце, где он в физиологических условиях в основном находится в фосфорилированной и, следовательно, неактивной форме. Основной целью может быть сохранение АРУЦ для синтеза белка при гиперкатаболическом состоянии, индуцируемом гиперпродукцией гормонов щитовидной железы [154].

Сывороточная концентрация Т3 снижается при голодании и сахарном диабете, соответствуя наблюдаемому воздействию (down-регуляции) этих метаболических состояний на экспрессию

киназы дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот. С другой стороны, белковая недостаточность повышает концентрацию ТЗ в сыворотке крови у крыс, что согласуется с наблюдаемой up-регуляцией экспрессии киназы дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот в этих условиях. Потребление низкобелкового рациона усиливает термогенез и экспрессию митохондриальной глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, двух маркеров гипертиреоидного состояния. Следовательно, можно предположить, что тиреоидные гормоны принимают участие в повышении экспрессии киназы дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот при белковой недостаточности у крыс [154].

При экспериментальном остром поражении печени у крыс введением CCl_4 (2 мл/кг массы тела) или стимуляции развития цирроза печени повторными введениями тетрахлорметана (дважды в неделю по 0,5 мл/кг массы тела в течение 21 недели) были получены разнонаправленные эффекты. Острое поражение печени снижало активность дегидрогеназного комплекса кетокислот с разветвленной углеродной цепью в печени на 50% и повышало концентрацию в плазме АРУЦ и свободных кетокислот с разветвленной углеродной цепью в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Очевидно, что их окисление (а, следовательно, и окисление АРУЦ) у крыс подавлялось. Напротив, при циррозе печени не снижалась активность печеночной ВСКДН, а даже увеличивалась в 2 раза, что приводило к значительному уменьшению в плазме концентрации АРУЦ и, соответственно, кетокислот с разветвленной углеродной цепью. Это показывает, что катаболизм свободных кетокислот с разветвленной углеродной цепью при циррозе печени повышен. У крыс с циррозом печени количество связанной формы киназы ВСКДН снижалось на 30% по сравнению с контрольными животными, указывая на то, что активация комплекса ВСКДН при циррозе печени обусловлена снижением количества связанной формы киназы [360]. Показано, что введение крысам ФНО- α (25 или 50 мкг/кг), способствуя диссоциации киназы ВСКДН из состава комплекса в печени крысы, приводит к его активации [355].

Внутриклеточная концентрация лейцина является основным регулятором активности BCKDH. Повышение уровня лейцина приводит к увеличению концентрации кето-аналога – α -кетоизокапроата, сильного ингибитора киназы BCKDH. В то же время повышение концентрации лейцина ингибирует пируватдегидрогеназу, лимитируя окисление пирувата [78]. Следовательно, когда внутриклеточный уровень лейцина повышается, мышцы используют глюкозу крови или запасы гликогена в качестве энергетических субстратов, а затем захватывают углеродный скелет пирувата в виде аланина, который образуется путем трансаминирования, используя аминокетогруппу, образующуюся из АРУЦ. Эти механизмы, вероятно, особо важны в периоды низкого энергопотребления или интенсивной физической нагрузки, когда увеличивается количество свободных АРУЦ в мышцах, концентрация инсулина в крови снижается и сохранение адекватного уровня глюкозы в крови становится особенно важным.

В скелетных мышцах крыс распад АРУЦ также регулируется комплексом BCKDH. Общая активность фермента в скелетной мышце крысы составляет только 2% от активности в печени (30 mU/г ткани для скелетной мышцы и 1500 mU/г для печени) [153, 350]. Количество активного фермента (процент активной формы ферментного комплекса) в скелетной мышце составляет только 4–6% в покое [350], тогда как в печени крыс (особенно у самцов) приближается к 100% [153]. Общая масса скелетных мышц, более высокое количество неактивного фермента в скелетной мышце (по сравнению с печенью) может отражать и более высокую концентрацию киназы BCKDH в мышце [407]. Почти весь комплекс BCKDH в скелетной мышце в нормальных условиях и в покое находится в неактивном/фосфорилированном состоянии, что способствует синтезу мышечных белков и росту мышечной массы.

Физическая нагрузка активирует комплекс, приводя к повышению катаболизма АРУЦ. Следовательно, при физической нагрузке увеличивается потребность в АРУЦ. Показано, что добавки АРУЦ до физической нагрузки уменьшают скорость распада мышечных белков, а лейцин является сильным стимулятором синтеза белка в скелетных мышцах. Доказано, что

добавки АРУЦ могут снижать повреждение скелетных мышц, вызваемое тяжелой физической нагрузкой и способствовать их восстановлению после повреждения [354].

Уменьшение способности окислять АРУЦ, как, например, при болезни мочи с запахом кленового сиропа, приводит к накоплению АРУЦ в крови, которое сопровождается выраженными неврологическими нарушениями и повреждением ткани мозга, эпилептиформными судорогами, а также торможением роста [156].

В клетках тканей млекопитающих существует значительный резерв активности ВСКДН. Поскольку инактивация происходит путем фосфорилирования комплекса, существующий резерв существенно превышает необходимый для катаболизма физиологических количеств АРУЦ, потребляемых с пищей. Это обусловлено несколькими причинами. Во-первых, это делает реакцию, катализируемую ВСКДН скоростью-лимитирующей стадией метаболического пути, что позволяет быстро перенаправить поток АРУЦ на биосинтез белка. Во-вторых, обеспечивает резерв ферментативной активности для чрезвычайных метаболических ситуаций. Следует помнить, что кетокислоты с разветвленной углеводной цепью образуют медленно метаболизируемые ацилкарнитины и короткоцепочечные ацил-КоА, которые создают своеобразный метаболический блок и истощают фонд свободного КоА (КоASH), что также оказывает влияние на липидный и углеводный обмен. Следовательно, это своеобразный механизм безопасности. Присутствующий ферментативный комплекс в ткани печени крыс является исключением. Он почти полностью дефосфорилирован и активен, следовательно, обеспечивает клиренс разветвленных кетокислот из портальной крови. Однако это существенно отличается от метаболической ситуации, наблюдаемой в печени человека, где реальная и общая активность фермента намного меньше, чем в печени крысы. Регуляция активности ВСКДН (процент фермента в его дефосфорилированной, активной форме) быстро достигается во всех тканях путем ингибирования активности протеинкиназы α -кетоизоапроатом, продуктом трансаминирования лейцина. Благодаря данному механизму, потребление с пищей больших

количеств АРУЦ мобилизует резервное количество ВСКДН для быстрого удаления АРУЦ и образующихся кетокислот.

Заключение. ВСКДН является скоростью-лимитирующей стадией в катаболизме АРУЦ. Ее функцией является обеспечение гомеостаза АРУЦ и разветвленных кетокислот. Очевидно, что именно она является мишенью множества регуляторных механизмов, включая цАМФ-опосредованную индукцию транскрипции мРНК и обусловленное фосфорилированием ингибирование/активацию ферментативной активности. Снижение энергетического потенциала клетки приводит к активации ВСКДН комплекса.

При высоком уровне АРУЦ $E1\alpha$ дефосфорилируется фосфатазой ВСКДН, активируя ВСКДН и способствуя удалению избытка АРУЦ. Следовательно, фосфорилирование/дефосфорилирование ВСКДН является центральным механизмом регуляции гомеостаза АРУЦ [155].

Сохранение АРУЦ позволяет им участвовать в биосинтезе белка, а активация ВСКДН существенно стимулирует глюконеогенез. При употреблении стандартного рациона фермент обычно находится в активном состоянии. Низкобелковый рацион повышает экспрессию киназы дегидрогеназы разветвленных кетокислот, что ведет к увеличению содержания фосфорилированной формы комплекса и сохранению для организма незаменимых АРУЦ. Напротив, избыток белка в рационе приводит к минимальному фосфорилированию комплекса. Таким образом, пищевое потребление лейцина может регулировать его окислительное декарбоксилирование в митохондриях.

ГЛАВА 3

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА

Слабостью (усталостью) может считаться неспособность сохранять мышечную силу и снижение способности выдерживать длительные физические нагрузки. Механизмы, которые непосредственно регулируют биохимические процессы в скелетных мышцах можно разделить на периферические и центральные [103]. В качестве причины развития механизма периферической усталости выделяют истощение запасов гликогена в мышцах, падение концентрации фосфокреатина, накопление протонов и формирующийся ацидоз, нарушение нейромышечной трансмиссии, тогда как в отношении факторов, определяющих центральные механизмы развития усталости, известно меньше (рис. 8).

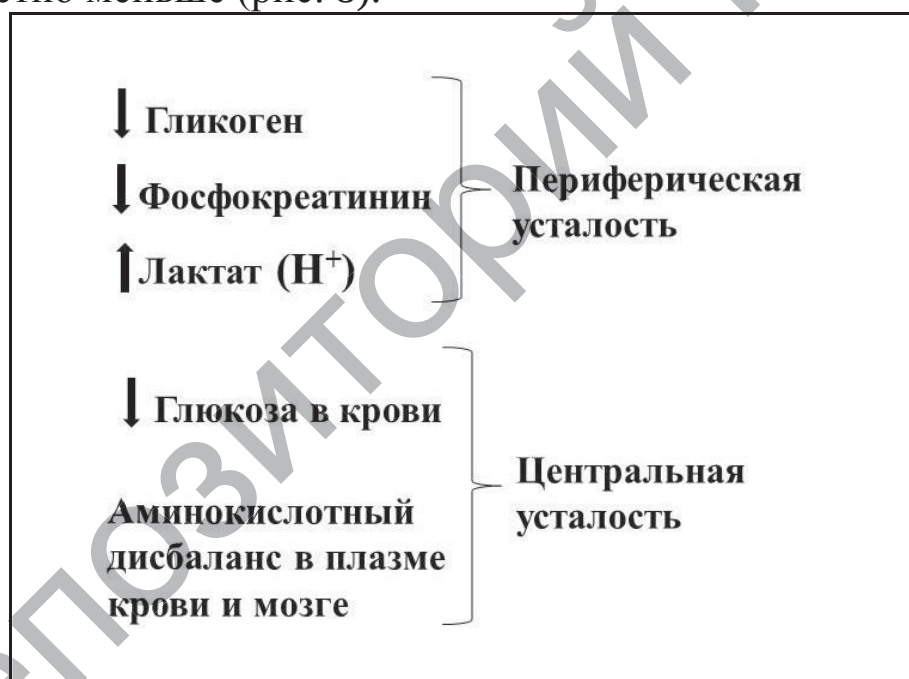


Рисунок 8 – Биохимические механизмы, обуславливающие развитие «центральной» и «периферической» усталости

Для объяснения феномена центральной усталости предложен ряд сопряженных механизмов, учитывающих изменения биохимических параметров в мышечной ткани и ЦНС: 1) повышение уровня ключевых соединений в скелетной мышце при физической активности, таких как H⁺, ионы K⁺, брадикинин,

фосфаты, простагландины, которые могут путем связывания со специфическими рецепторами на мышечных клетках передавать информацию через сенсорные нервные волокна в нейроны мозга; 2) снижение в крови уровня глюкозы и, следовательно, ее содержания в мозге, что уменьшает обеспеченность глюкозой нейронов в определенных областях мозга, участвующих в регуляции моторной активности; 3) увеличение концентрации триптофана в крови и, следовательно, его транспорта в мозг, 4) наработка нейротрансмиттера серотонина в некоторых нейронах, контролирующей моторную активность клеток мозга [30, 244, 295]. Кроме того, при длительной физической нагрузке в плазме накапливается аммиак, обладающий высокой токсичностью, что также влияет на формирование как периферических, так и центральных механизмов усталости [41, 60, 267].

Когда концентрации АРУЦ в плазме повышаются, это, благодаря наличию общих транспортных белков, нарушает поступление в мозг ароматических аминокислот, особенно триптофана [107]. Синтез серотонина в клетках мозга зависит непосредственно от доступности триптофана. Очевидно, что когда концентрации АРУЦ в плазме повышаются, содержание в мозге триптофана и серотонина падает [107]. Известно, что скорость-лимитирующей стадией синтеза серотонина является транспорт триптофана через гематоэнцефалический барьер (рис. 9). Клетки мозга получают все незаменимые аминокислоты через активированные транспортные системы L^1 и y^+ , которые находятся на плазматических мембранах. Транспортёры X_G^- и p находятся только на просветной части мембраны и используются для обеспечения клетки глутамином, аспартатом и одновременно участвуют в экскреции глутамината. Транспортёры обладают низкой специфичностью и переносят различные аминокислоты. Na^+ -зависимые транспортные системы, как правило, осуществляют элиминацию заменимых аминокислот, нейротоксичных аминокислот глутамата и аспартата и обеспечивают оптимальную концентрацию всех остальных аминокислот. Активность переноса каждой из отдельных аминокислот во многом зависит от доступности свободного триптофана и концентраций других нейтральных аминокислот, включая АРУЦ, которые используют общие с триптофаном

мембранные переносчики. Дополнительное введение АРУЦ может уменьшать транспорт триптофана, следовательно, и синтез серотонина в мозге [294].

Кровь



Рисунок 9 – Транспортные системы, обеспечивающие перенос аминокислот через гематоэнцефалический барьер

Гипотеза центральной усталости предполагает, что повышение уровня серотонина в пресинаптическом нейроне приводит к повышению количества нейротрансммиттера, высвобождающегося при стимуляции в синаптическую щель. Затем должно повышаться количество серотонина, связывающегося с рецепторами, которое будет стимулировать электрическую активность в постсинаптическом нейроне. Уменьшение запасов гликогена, повышенное окисление АРУЦ и высокая концентрация свободных жирных кислот действуют в качестве важных факторов повышения синтеза серотонина в ЦНС, полностью зависимо от доступности триптофана — предшественника серотонина (рис. 10).

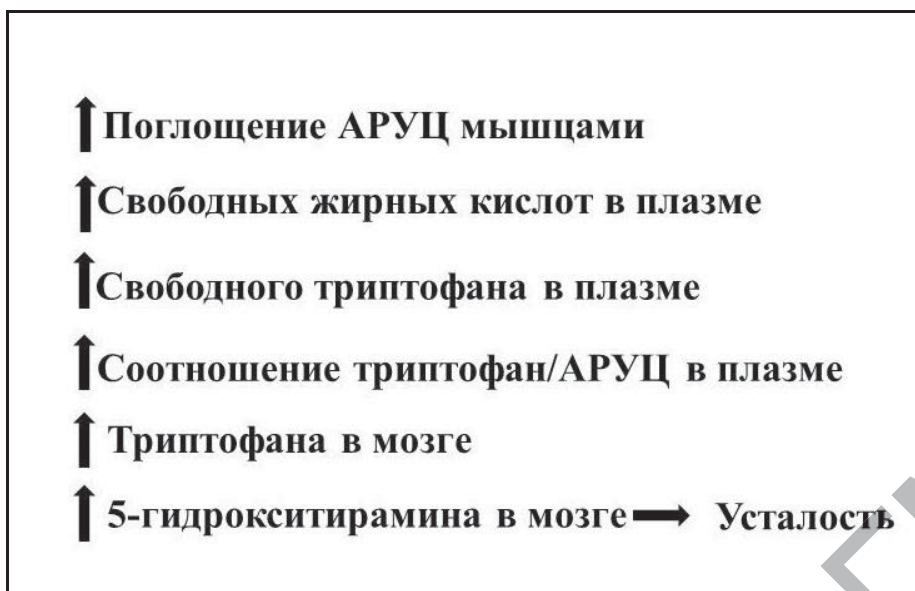


Рисунок 10 – Биохимические механизмы формирования усталости при физической нагрузке

Повышенный синтез серотонина при физической нагрузке способствует развитию центральной усталости, поскольку этот нейротрансмиттер выполняет ряд физиологических функций, регулируя поведение, сон, летаргию, температуру тела и артериальное давление, аппетит [359]. Поскольку изменения уровней нейротрансмиттеров в мозге наблюдаются при ряде заболеваний: депрессии – вследствие низкого уровня катехоламинов; болезни Паркинсона – вследствие низкого уровня дофамина; шизофрении – как следствие избытка дофамина, не исключено, что в основе гипотезы центральной усталости могут лежать те же биохимические механизмы, что и при вышеперечисленных заболеваниях (рис.11).

В гипотезе «центральной усталости» в качестве дополнительного важного механизма, вносящего вклад в развитие мышечной слабости и формирования усталости при длительных физических нагрузках, указывается на роль липидного обмена [135]. При длительной физической нагрузке свободные жирные кислоты, мобилизуемые из жировой ткани, транспортируются в скелетные мышцы для энергетических целей. Поскольку скорость их мобилизации выше, чем скорость утилизации жирных кислот в мышечных клетках, концентрации свободных жирных кислот в крови возрастают. Как свободные жирные кислоты, так и триптофан связываются с альбумином

плазмы, что приводит к конкуренции за общие сайты связывания [310].

Триптофан является единственной аминокислотой, которая связывается с альбумином плазмы, и только 10% общего триптофана плазмы находится в свободном виде, тогда как 90% – переносится в связанной с альбумином форме [98]. При увеличении концентрации свободного триптофана в крови повышается соотношение свободный триптофан/АРУЦ. Это, в свою очередь, повышает транспорт свободного триптофана в мозг через гематоэнцефалический барьер, поскольку АРУЦ конкурируют с триптофаном на уровне общей транспортной системы [108, 359].

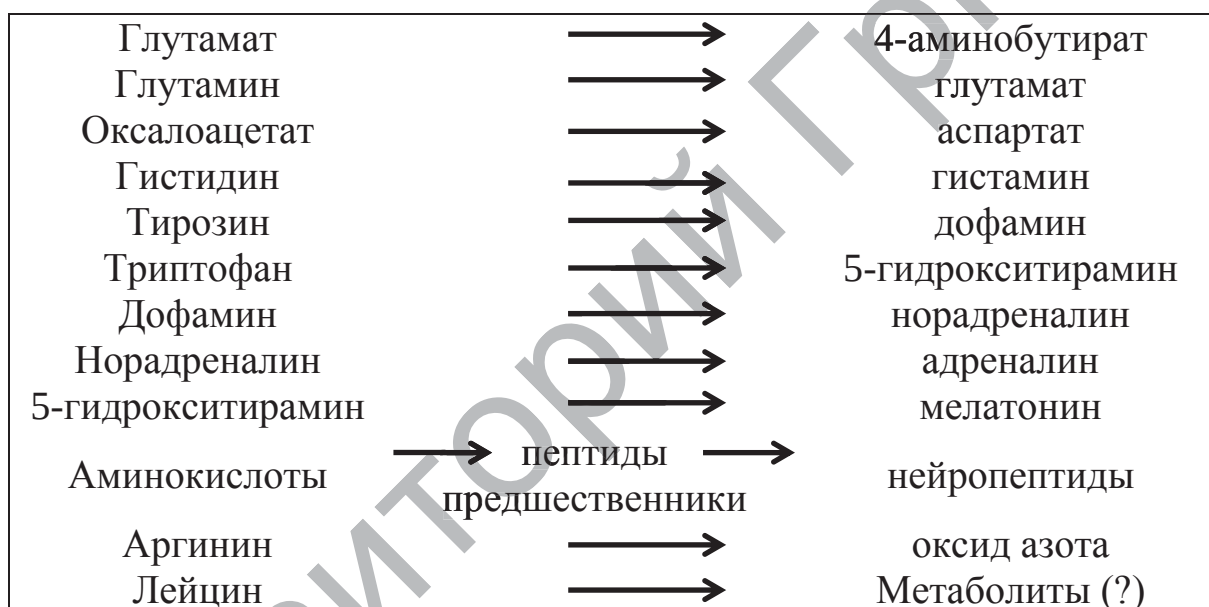


Рисунок 11 – Аминокислоты, предшественники нейротрансмиттеров и биогенных аминов, участвующих в патогенезе заболеваний нервной ткани

Первая реакция синтеза серотонина катализируется ферментом триптофангидроксилазой, и поскольку этот фермент не насыщен субстратом, скорость реакции чувствительна к изменению концентраций триптофана и транспорту триптофана через гематоэнцефалический барьер. На скорость транспорта влияет активность переносчика, концентрация триптофана в плазме, фракция триптофана, доступная для переноса в мозг, концентрации других больших нейтральных аминокислот

(включая АРУЦ), которые конкурируют на уровне общей транспортной системы [310].

Серотонин выполняет функции тормозного нейромедиатора. Исследования на крысах показали, что повышение концентрации серотонина в мозге увеличивает продолжительность сна и уменьшает уровень агрессии. Доказано, что повышенное поступление триптофана в мозг ведет к увеличению уровня серотонина в отделах мозга и в спинномозговой жидкости крыс, подвергнутых физической нагрузке (с использованием тредмилла) [79]. Следовательно, увеличение серотонинергической активности клеток мозга может вызывать феномен центральной усталости. Гипотеза центральной усталости позволяет предположить, что длительное потребление АРУЦ, повышая в плазме концентрацию АРУЦ, будет снижать транспорт свободного триптофана в мозг.

Если гипотеза центральной усталости верна и потребление АРУЦ предупреждает увеличение в мозге серотонина и, следовательно, уменьшает проявления усталости, то и противоположное должно быть тоже верно – прием триптофана до физической нагрузки должен был бы уменьшать ее эффективность. Однако до настоящего времени это не доказано [390]. Тем не менее, наличие данной гипотезы позволило обосновать особую роль АРУЦ в ЦНС [56, 107]. Тем не менее, используя различные виды физических нагрузок и способы введения АРУЦ (инфузия, пероральный прием совместно с углеводами или без таковых) не удалось выявить их стимулирующего эффекта в отношении физической активности [59, 390]. Однако, доказано, что колебания содержания АРУЦ в плазме крови могут оказывать влияние на аппетит, физическую и психическую активность [294, 295, 408], умственную работоспособность и когнитивные функции [77], физическую выносливость [58, 157], сон [107], изменять секрецию гормонов, артериальное давление и некоторые другие функции, регулируемые ЦНС [159].

Обеспеченность клеток мозга серосодержащими аминокислотами и их метаболитами может оказывать модулирующее действие на транспорт остальных аминокислот. Так, основной метаболит метионина и цистеина, глутатион,

обеспечивает не только антиоксидантную защиту клетки при окислительном стрессе, но и является одним из компонентов транспортной системы (рис.11). γ -Глутамильный радикал позволяет транспортировать аминокислоты с внешней поверхности мембраны эндотелиальных клеток с помощью транспептидазы (GGT), которая отщепляет γ -глутамил- от глутатиона с образованием временного соединения γ -глутамил-аминокислоты. γ -Глутамил-аминокислота поступает в эндотелиоцит, где аминокислота высвобождается и образуется пироглутамат. Na^+ -зависимые транспортные системы A, ASC, LNAA, EAAT и y^+ находятся на внешней поверхности мембраны и активируются пироглутаматом. N – единственная система, не стимулируемая аминокислотами.

Транспорт больших нейтральных аминокислот на уровне гематоэнцефалического барьера осуществляется системой облегченного транспорта L1. Переносчик L1 располагается на обеих поверхностях мембраны и не изменяет активность под действием пироглутамата.

АРУЦ особо эффективно конкурируют с ароматическими аминокислотами. Наблюдения за пациентами с фенилкетонурией показали, что добавки валина, изолейцина и лейцина приводят к улучшению неврологического и психосоматического статуса [361]. В основе подобной терапии лежит гипотеза о том, что повышенные концентрации фенилаланина (образование «ложных нейромедиаторов») в мозге оказывают нейротоксическое действие. Поскольку все большие нейтральные аминокислоты имеют общую транспортную систему для поступления в мозг, то высокие концентрации в плазме АРУЦ могут блокировать транспорт ароматической аминокислоты в клетки мозга [310]. При обсуждении вариантов лечения с использованием смеси больших нейтральных аминокислот обращают внимание не только на дозы, но и на состав композиции. Благоприятно влияет включение в аминокислотную композицию лизина и аргинина, но основу должны составлять такие специфические аминокислоты, как лейцин, изолейцин и метионин (рис.12) [152].



Снижение в плазме соотношения триптофан/АРУЦ дополнительным приемом АРУЦ, вероятно, могло бы уменьшить поступление триптофана в пресинаптический нейрон, снизить синтез серотонина и, следовательно, предупредить стимуляцию постсинаптического нейрона. Между тем, появляющиеся научные данные говорят о том, что положительный эффект введения АРУЦ для снижения феномена усталости центрального происхождения при физической нагрузке является, скорее всего, не следствием снижения скорости синтеза серотонина, а, возможно, влияния на другие биохимические механизмы. Известно, что ряд аминокислот являются предшественниками нейротрансмиттеров или непосредственно выполняют нейротрансмиттерную функцию. Следовательно, если предположить, что АРУЦ (например, лейцин) сам действует как нейротрансмиттер, то одной из функций этого нейромодулятора должна быть регуляция центральной усталости. С другой стороны, лейцин может превращаться в метаболит, который сам

по себе является новым нейроактивным соединением. Подобное предположение появилось в связи с некоторыми противоречиями, полученными при детальном изучении гипотезы, основывающейся на роли триптофана [193].

Как указывалось выше, АРУЦ влияют на функции клеток мозга, модулируя транспорт больших нейтральных аминокислот через гематоэнцефалический барьер. Заметим, что АРУЦ и ароматические аминокислоты являются в этом процессе конкурентами. Следовательно, когда уровень в плазме АРУЦ высокий, что имеет место при потреблении пищи или дополнительном введении АРУЦ, а также при некоторых патологических состояниях (например, сахарный диабет), концентрации АРУЦ в мозге увеличиваются а, в свою очередь, уровни ароматических аминокислот падают. Такие эффекты могут быть кратковременными или хроническими. Снижение в мозге концентраций ароматических аминокислот может иметь функциональные последствия: биохимические – уменьшается синтез и высвобождение нейромедиаторов, образующихся из ароматических аминокислот, а именно: серотонина (из триптофана) и катехоламинов (из тирозина и фенилаланина); функциональные эффекты таких нейрохимических изменений реализуются в виде нарушения гормональных функций, колебаний артериального давления, возникновения аффективных расстройств.

К настоящему времени не проведено ни одного исследования, указывающего на критические (максимально возможные) уровни потребления АРУЦ и их возможное негативное влияние на ЦНС. Единственной природной «моделью» очень высокой метаболической нагрузки АРУЦ является редкое генетическое заболевание «болезнь мочи с запахом кленового сиропа», при которой наблюдается поражение ЦНС, но которое, конечно, не может являться полезной моделью оценки чрезмерного потребления АРУЦ здоровыми лицами [90]. При болезни мочи с запахом кленового сиропа, где генетические нарушения изменяют метаболизм разветвленных кетокислот, избыток циркулирующих АРУЦ ассоциируется с тяжелыми клиническими симптомами, среди которых доминируют неврологические. Показано, что в кортикальных нейронах валин

и сочетание всех трех АРУЦ усиливают эксайтотоксичность и даже сами могут быть токсичными для нейронов при отсутствии дополнительных эксайтотоксических воздействий [90].

В противоположность печени, которая может окислять двадцать аминокислот, присутствующих в тканевых белках, скелетная мышца может окислять только шесть: лейцин, изолейцин, валин, аспартат, аспарагин и глутамат [180, 397]. В мышечной ткани АРУЦ участвуют в биосинтезе белка и являются донорами азота для синтеза других аминокислот, а также используются в качестве энергетических субстратов при физической нагрузке. Из трех АРУЦ лейцин является основной аминокислотой, ответственной за стимуляцию синтеза белка. Стимулирующий эффект лейцина на синтез белка осуществляется путем up-регуляции инициации трансляции мРНК [205]. АРУЦ широко используются спортсменами в качестве пищевых добавок для повышения физической выносливости. Известно, что потребление АРУЦ, превышающее возможность их использования в процессах биосинтеза белка, активирует их окисление. Когда спортсменам назначали смесь АРУЦ при продолжительной физической нагрузке, у них отмечалось уменьшение признаков центральной усталости [59].

Помимо улучшения физической выносливости потребление АРУЦ улучшает когнитивные функции у спортсменов. Показано, что спортсмены, употребляющие АРУЦ после окончания выполнения физических упражнений, лучше решают тест-задания. Показано также, что потребление углеводов по время физической нагрузки снижает положительный эффект АРУЦ [60, 301]. При длительной физической нагрузке умеренной интенсивности снижение уровня глюкозы в крови вследствие истощения запасов печеночного гликогена является одним из факторов, влияющих на ЦНС и вызывающих усталость. Потребление углеводов при физической нагрузке подавляет увеличение в плазме свободных жирных кислот и свободного триптофана, что снижает их поступление в мозг.

Инфузия АРУЦ пациентам с циррозом печени блокировала повышенное потребление тирозина нервной тканью [339]. Введение валина крысам предупреждало вызываемое физической нагрузкой увеличение высвобождения серотонина в гиппокампе

[139]. Оба исследования подтверждают, что повышение в плазме концентрации АРУЦ снижает транспорт ароматических аминокислот, тирозина и триптофана, в мозг в результате конкуренции за общие транспортные пути на уровне гематоэнцефалического барьера [107].

Потеря аппетита в целом приводит к снижению потребления пищи. Анорексия оказывает вторичное влияние на снижение поступления АРУЦ. Повышенный распад белков скелетных мышц приводит к высвобождению ароматических аминокислот, которые не метаболизируются в мышечной ткани, как это происходит в отношении АРУЦ. В итоге формируется повышенное соотношение ароматические аминокислоты/АРУЦ в периферической крови. Это может приводить к увеличению транспорта ароматических аминокислот через гематоэнцефалический барьер и стимулировать биосинтез нейротрансмиттеров в мозге. Серотонин, в частности, также принимает участие в развитии анорексии. Добавки АРУЦ в течение 7 дней приводят к повышению в плазме концентрации больших нейтральных аминокислот, что снижает их соотношение с триптофаном. В итоге это способствует уменьшению синтеза серотонина [74].

Оценка эффектов добавок АРУЦ на выносливость при длительной физической нагрузке неоднозначна – показано их положительное действие [95] и, одновременно, отсутствие эффекта [122]. Это может быть причиной различий в экспериментальных подходах, различного предварительного состояния животных или физиологического статуса добровольцев, дозы, соотношения аминокислот и длительности используемых добавок, а также многих других причин, включая периодичность и способ введения.

Аммиак является одним из наиболее токсичных метаболитов, образующихся в разных биохимических системах. Его концентрации в ряде компартментов организма повышаются при физической нагрузке, преимущественно вследствие повышения активности протеолиза и распада пуриновых нуклеотидов в скелетной мышце [166, 258]. В зависимости от интенсивности и длительности нагрузки уровень аммиака в мышцах может повышаться до концентраций, способных

диффундировать из мышцы в кровь и переноситься к другим органам [166]. Направление перемещения аммиака или аниона аммония зависит от градиента рН и его концентраций между тканями. Аммиак также пересекает гематоэнцефалический барьер, хотя скорость диффузии аммиака из крови в мозг при физической нагрузке неизвестна [260, 404]. Можно предположить, что чрезмерная нагрузка может вызывать состояние острой интоксикации аммиаком, которая, хотя и будет носить транзиторный характер, может быть весьма неблагоприятной для отдельных регионов ЦНС. Региональные различия в содержании аммиака, способности к его детоксификации и специфической чувствительности могут быть причиной дисфункции ЦНС, в том числе моторных нарушений, атаксии и ступора. Есть мнение, что повышенный уровень аммиака также может быть причиной развития физической усталости [30,180].

Длительное потребление АРУЦ повышает в плазме концентрацию аммиака. Это указывает на то, что специальные диеты, содержащие большие количества АРУЦ, могут быть токсичными и приводить к формированию ощущения усталости при длительных физических нагрузках. Показано, что длительное применение АРУЦ при физической нагрузке существенно повышает концентрации этих аминокислот в плазме, увеличивает печеночный катаболизм АРУЦ и приводит к повышению количества циркулирующего аммиака [351].

Показано, что использование аминокислотной композиции в соотношении 2,1:1:1,2 (лейцин:изолейцин:валин) не приводило к гибели животных при однократном ее введении в дозе 10 г АРУЦ/кг массы и LD50 при этом оценивалось >10 г/кг массы. Не наблюдали отрицательных эффектов при введении АРУЦ в дозе 2,5 г/кг массы в день в течение трех месяцев или 1,25 г/кг массы ежедневно в течение 1 года [353]. Более того, исследования добавок АРУЦ физически активным молодым людям показало, что повышенные количества АРУЦ в рационе хорошо переносятся при наличии в пище достаточно большого количества белка. Потребление АРУЦ с пищевым рационом в количестве свыше 450 мг/кг массы в день не вызывало негативных эффектов у здоровых взрослых лиц [135], что

позволяет утверждать о минимальном влиянии аммиака как фактора, определяющего развитие усталости в здоровом организме.

Закключение. Экспериментальные и клинические данные показывают, что причина мышечной слабости (усталости) многофакторная. На формирование феномена усталости влияют биохимические изменения, происходящие как в ЦНС, так и в периферических тканях. Очевидно, что длительная физическая нагрузка вызывает изменения концентраций серотонина, дофамина и норадреналина в клетках ЦНС. Скорости синтеза серотонина, дофамина и норадреналина в значительной степени зависят от периферической доступности аминокислот триптофана и тирозина. Их чрезмерное поступление в мозг повышает серотонинергическую и дофаминергическую (норадренергическую) активность клеток мозга. Триптофан, тирозин и АРУЦ используют общий транспортер при прохождении гематоэнцефалического барьера, следовательно, соотношение этих аминокислот в плазме будет являться очень важной детерминантой синтеза нейротрансмиттеров. Фармакологические исследования активности этих нейротрансмиттерных систем подтвердили важную роль ЦНС в развитии усталости. Не менее важную роль играет опосредованная нейротрансмиттерная функция АРУЦ, заключающаяся в обеспечении клеток мозга нейротрансмиттерными аминокислотами – глутаматом и аспартатом. Помимо этого, нельзя исключить и повышенную выработку аммиака в скелетных мышцах, механизм токсического действия которого на нейроны и клетки глии подробно описан в литературе.

ГЛАВА 4

АМИНОКИСЛОТЫ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ И ПАТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ

Доступность аминокислот для многочисленных биохимических превращений определяется скоростью, с которой они появляются в плазме и клеточных пулах, а также интенсивностью, с которой они используются в клеточном метаболизме, образуя другие заменимые аминокислоты, являются источниками энергии в результате полного окисления в ЦТК, выводятся из организма с мочой или включаются в белки. Хотя уровень свободных аминокислот в плазме может дать важную информацию о состоянии метаболических процессов в организме, оценка реального потока свободных аминокислот на уровне всего организма, на органном уровне и в пределах самой клетки является более важной. Однако наши знания об этом процессе достаточно ограничены. Данное обстоятельство связано в основном с тем, что исследования *in vivo* печеночного (и интестинального) потребления аминокислот и их высвобождения требует, например, раздельного забора крови из печеночной и портальной вен, что технически трудно осуществимо у человека, в том числе и по этическим причинам. Как следствие, подобные данные были получены в основном в результате обследования пациентов с заболеваниями печени и внутрипеченочными портосистемными шунтами или в экспериментах на животных [127].

Пациенты с хроническими заболеваниями печени, как правило, имеют широкий спектр метаболических нарушений и проявлений недостаточности питания, поскольку печень является центральным органом метаболизма нутриентов [80]. Хронические и острые заболевания печени могут оказывать глубокое воздействие на нутритивный статус и метаболизм свободных аминокислот. В частности, частота диагностируемой недостаточности питания у пациентов с печеночной патологией составляет от 10% до 100%, в зависимости от используемых методов оценки и изучаемой популяции. Патофизиология мальнутриции при заболеваниях печени комплексная и

многофакторная. Среди основных причин – снижение потребления пищи, нарушение абсорбции нутриентов, повышенные потребности в макро- и микроэлементах, витаминах, изменения скорости утилизации субстратов, нарушения метаболизма белка и отдельных аминокислот.

У пациентов с прогрессирующим циррозом печени концентрации АРУЦ в плазме крови низкие, тогда как концентрации ароматических аминокислот, таких как фенилаланин и тирозин, повышены, что также может иметь непосредственное отношение к прогрессированию печеночной энцефалопатии и негативному прогнозу у этих пациентов [370].

Наличие недостаточности питания часто связывают с повышенной смертностью пациентов при остром и хроническом гепатите. Более того, мальнутриция влияет на когнитивные функции и проявляется дерматологическими нарушениями. Корреляция частоты мальнутриции со смертностью и выявление высокой частоты недостаточности питания среди пациентов с алкогольным поражением печени вызывает необходимость разработки разнообразных методов нутритивной поддержки. Адекватное использование пищевых добавок, особенно содержащих незаменимые компоненты пищи, в частности АРУЦ, позволяет избежать подобных осложнений при хроническом поражении печени. Между тем, показано, что парентеральное или энтеральное назначение только смеси АРУЦ не может обеспечить длительную полноценную поддержку пациентам с алкогольным гепатитом [307]. Смеси, способствующие сохранению положительного азотистого баланса, помимо стандартного набора аминокислот должны содержать дополнительные количества калия, фосфатов, магния, цинка, тиамин. При этом предпочтителен энтеральный путь введения нутриентов.

В физиологических условиях пищевые белки почти полностью расщепляются на составляющие их аминокислоты, которые затем быстро всасываются и переносятся от слизистой к серозной поверхности кишечника. Активный транспорт аминокислот является энергозависимым процессом, осуществляемым многочисленными белками-переносчиками, в основном с помощью Na^+ -зависимого симпорта. После

поступления по воротной вене в энтероциты тонкого кишечника абсорбированные аминокислоты (не менее 20% из которых АРУЦ) поступают в печень. Однако они проходят печень транзитом и используются главным образом в скелетных мышцах и нервной ткани.

Помимо регуляторного воздействия АРУЦ (особенно лейцина) на метаболизм в организме в целом и на белковый обмен в частности, имеется ряд дополнительных причин для их благоприятного действия при заболеваниях печени. Во-первых, у пациентов с циррозом, как правило, развивается гиперметаболическое состояние, что подразумевает более высокую, чем в норме, потребность в аминокислотах и белках, что может быть скорректировано назначением АРУЦ. Известно, что белково-энергетическая недостаточность при циррозе печени встречается в 65–90% случаев, в зависимости от этиологии заболевания (алкогольной-неалкогольной) и тяжести поражения печени. Белково-энергетическая недостаточность у пациентов характеризуется низким содержанием альбумина в сыворотке крови (висцеральный белок) и уменьшением объема скелетных мышц (мышечный белок), что способствует прогрессированию основного заболевания, повышая риск осложнений, которые снижают резистентность организма и качество жизни. Следует отметить, что долгосрочный прогноз после проведенной трансплантации печени также зависит от нутритивного статуса пациентов. Во-вторых, АРУЦ не метаболизируются в печени, и попадая в общий кровоток, доступны для биосинтеза белка во всех тканях организма. Этому способствует и повышенный уровень инсулина, часто регистрируемый при инсулинорезистентности. Третье, как правило, концентрации АРУЦ в плазме при циррозе ниже контрольных значений, что указывает на относительный дефицит этих аминокислот. Следует заметить, что измерения внутриклеточной концентрации свободных аминокислот обнаруживают нормальный уровень АРУЦ в скелетных мышцах даже на терминальных стадиях поражения печени, что позволяет предположить нарушение их высвобождения в кровь. Отметим, что вследствие мышечной атрофии общее количество АРУЦ у этих пациентов снижено. В четвертых, добавки АРУЦ тормозят прогрессирование

печеночной энцефалопатии, в противоположность тому, как это наблюдается при использовании обычных пищевых белков. Наконец, АРУЦ, и особенно лейцин, в наибольшей степени активируют синтез печеночными звездчатыми клетками фактора роста гепатоцитов (HGF), плеiotропной субстанции, обладающей митогенной активностью. Благоприятные эффекты назначения АРУЦ пациентам с прогрессирующей энцефалопатией проявляются, в том числе, стимуляцией регенерации печени, компенсирующее уменьшение печеночных клеток [251].

Вероятно, основной причиной недостаточности АРУЦ при циррозе печени является их потребление миоцитами для синтеза глутамата, который необходим для детоксификации аммиака, поэтому дополнительное введение АРУЦ пациентам с поражением печени оказывает положительный эффект, особенно при первоначально сниженном уровне АРУЦ. С другой стороны, вследствие стимулирующего эффекта добавок АРУЦ на синтез глутамина это может приводить к повышенной продукции аммиака в результате последующего распада глутамина в энтероцитах кишечника и почках, что будет способствовать прогрессированию печеночной энцефалопатии. Следовательно, для повышения терапевтической эффективности АРУЦ у пациентов с поражением печени следует предусмотреть возможность предупреждения избыточного накопления аммиака. С этой целью в лечении печеночной энцефалопатии практикуют одновременное назначение АРУЦ (для коррекции аминокислотного дисбаланса и усиления связывания аммиака в глутамин) с α -кетоглутаратом (для ингибирования распада глутамина до аммиака в энтероцитах) и/или фенилбутирата (для повышения экскреции глутамина почками). При назначении аминокислотных добавок внимание следует обращать и на тип поражения печени, наличие желудочно-кишечных кровотечений, признаков воспаления и дозировку АРУЦ [168].

Дополнительное введение АРУЦ оказывает на организм комплексное воздействие: изменяется экспрессия генов, метаболизм белков, активность апоптоза, скорость регенерации гепатоцитов, инсулинорезистентность. Показано, что АРУЦ ингибируют пролиферацию опухолевых клеток печени *in vitro*, но

незаменимы для пролиферации лимфоцитов и созревания дендритных клеток.

Клетки печени реагируют на присутствие многих гормонов, которые оказывают разнонаправленное действие на обмен белков, углеводов и липидов, среди них инсулин, половые гормоны, инсулиноподобные факторы, глюкагон. Это позволяет утверждать, что улучшение их метаболического статуса окажет опосредованное влияние на регуляцию метаболизма в организме в целом. Не исключено, что именно этим обусловлены такие эффекты, которые сложно связать с собственным метаболизмом АРУЦ. Так, введение лейцина белым крысам-самкам массой 180-220 г в дозе 100 мг/кг массы ежедневно внутривентрикулярно в течение 5 дней вызывало расширение синусоидных капилляров долек печени как в центральных, так и периферических отделах. Методом электронной микроскопии были выявлены обратимые ультраструктурные изменения в печени. На стимуляцию биосинтетических процессов указывали гиперплазия и гипертрофия ядрышек с преобладанием в них гранулярного компонента, повышенная степень активности гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС), резкое увеличение числа митохондрий с многочисленными, отличающимися полиморфизмом, кристами. Одновременно наблюдали тесный контакт митохондрий с цистернами гранулярной эндоплазматической сети [22]. Последнее, вероятно, свидетельство процессов, протекающих с использованием большого количества энергии. В цитоплазме гепатоцитов животных, получавших лейцин, чаще, чем в печени контрольных животных, обнаруживали компоненты комплекса Гольджи. Введение лейцина повышало в гепатоцитах содержание липидных включений. В ряде гепатоцитов наблюдали участки с разреженной цитоплазмой. Этот феномен обычно связан с локальной редукцией цитоплазматических органелл и рассматривается в качестве защитной реакции клетки. Одновременно в цитоплазме гепатоцитов возрастало количество вторичных образований, представленных мультивезикулярными тельцами, пластинчатыми структурами, окруженными двойной мембраной, а также мелкими электронно-плотными гранулами. Помимо описанных выше ультраструктурных изменений в

печени, введение лейцина вызывало усиление межклеточных обменных процессов. Об этом свидетельствовала выраженная интердегитация латеральных поверхностей гепатоцитов с образованием глубоких карманов. Хотя со стороны микрососудистого русла существенных деструктивных изменений не обнаруживалось, тем не менее, синусоидные капилляры были умеренно расширены, заполнены мелкозернистой субстанцией, в которой регистрировали единичные макрофаги, фибробласты и немногочисленные форменные элементы крови. Одновременно желчные капилляры имели типичное строение, содержали многочисленные микроворсинки, обращенные в слегка суженный за счет ворсинок просвет. Следует отметить, что в пределах одной дольки, рядом с гепатоцитами, характеризующимися изменением структурной организации клетки, находились гепатоциты с нормопластическим вариантом строения. Очевидно, что метаболические изменения в клетках печени при дополнительном введении лейцина имеют в своей основе ультраструктурные изменения компонентов клетки. Таким образом, ежедневное пятикратное энтеральное введение нормальным животным лейцина в дозе 100 мг/кг массы приводит к заметным изменениям в печени, которые являются очевидным доказательством биологической активности лейцина, даже при назначении в относительно небольшой дозе [23–25].

Концентрации АРУЦ в сыворотке крови пациентов с заболеваниями печени и циррозом печени

J.E.Fischer в 1979 г. опубликовал свою гипотезу о патогенезе печеночной энцефалопатии [178], основанную на наблюдениях о том, что при поражении печени уровни АРУЦ в плазме крови снижаются, а общее содержание ароматических аминокислот, напротив, увеличивается. Эти изменения в пуле свободных аминокислот плазмы обусловлены увеличением катаболизма АРУЦ в скелетных мышцах и снижением распада ароматических аминокислот в пораженной печени. Было предположено также, что уменьшение соотношения инсулин/глюкагон играет ключевую роль в нарушении баланса между процессами анаболизма и катаболизма. Накопление ароматических аминокислот в плазме крови одновременно с увеличением

интенсивности распада АРУЦ, особенно в скелетных мышцах, должно было, согласно этой гипотезе, приводить к снижению соотношения АРУЦ/ароматические аминокислоты, которое было названо индексом (коэффициентом) Фишера. Согласно этой гипотезе, повышение в плазме содержания ароматических аминокислот и сопутствующее увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейтральных аминокислот усиливает поток ароматических аминокислот в мозг, поскольку они конкурируют за общие транспортные системы (переносчики больших нейтральных аминокислот). Это приводит к дисбалансу в биосинтезе биогенных аминов и накоплению в мозге «ложных» нейротрансмиттеров, таких как октопамин и фенилэтиламин, которые вносят существенный вклад в развитие печеночной энцефалопатии [110].

Гипераммониемия, согласно этой гипотезе, также вносит свой вклад в прогрессирование печеночной энцефалопатии. В частности, аммиак стимулирует секрецию глюкагона, способствуя гиперглюкагонемии, которая имеет место одновременно с гиперинсулинемией. Известно, что при поражении печени и развитии гипераммониемии аммиак детоксифицируется альтернативными путями, наиболее важным из которых является образование глутамина из глутамата. Этот метаболический путь имеет место главным образом в головном мозге и скелетных мышцах, причем последний количественно наиболее важен. Как уже указывалось, в скелетной мышце АРУЦ трансаминируется с кетоглутаратом в АРУЦ-трансферазной реакции, что приводит к наработке глутамата и может являться одной из причин низкого уровня АРУЦ в плазме. Амидирование глутамата вносит основной вклад в синтез глутамина. После связывания аммиака с глутаматом в глутаминсинтетазной реакции (НФ 6.3.1.2) в качестве альтернативного пути детоксификации аммиака глутамин экспортируется из скелетных мышц и ткани мозга. Повышенное церебральное высвобождение глутамина, согласно этой гипотезе, вероятно, облегчает быстрый обмен больших нейтральных аминокислот глутамина на нейтральные аминокислоты, в частности, ароматические. Этот повышенный приток ароматических аминокислот в мозг повышает доступность аминокислот-предшественников для

синтеза нейротрансмиттеров. Так, повышенное потребление триптофана мозгом позволяет ускорить синтез нейротрансмиттера серотонина, тогда как избыточное поступление в мозг фенилаланина и тирозина может нарушать нейротрансмиссию, способствуя синтезу не только церебральных катехоламинов, но и «ложных» нейротрансмиттеров – фенилэтиламина и октопамина [110].

Сниженные концентрации в сыворотке крови АРУЦ и одновременно более высокие концентрации ароматических аминокислот фенилаланина и тирозина у пациентов с прогрессирующими заболеваниями печени приводят к низкому отношению АРУЦ/ароматические аминокислоты. В клинике низкий коэффициент Фишера ассоциируется с печеночной энцефалопатией. Дисбаланс свободных аминокислот становится более выраженным при прогрессировании поражения печени, в связи с чем аминокислоты полезно использовать для оценки прогноза у пациентов с циррозом печени (без гепатоцеллюлярной карциномы). Более того, упрощенный коэффициент Фишера, соотношение АРУЦ/тирозин может быть полезен для прогноза изменения содержания альбумина в сыворотке крови [368]. Эти данные указывают, что аминокислотный дисбаланс, с учетом коэффициента Фишера, а также соотношение АРУЦ/тирозин являются маркерами прогрессирования заболеваний печени и коррекция этого показателя может иметь терапевтическое значение не только с точки зрения нутритивного статуса, но и для предупреждения энцефалопатии у пациентов с прогрессирующими поражениями печени.

Между тем, наблюдаемые при разных типах поражения печени изменения концентраций АРУЦ в плазме бывает сложно интерпретировать. Так, при фульминантном гепатите уровни АРУЦ могут быть нормальные или повышенные [327]. В случае интенсивного портосистемного коллатерального кровотока уровни АРУЦ в плазме низкие и часто сочетаются с гипераммониемией [169]. Поскольку цирроз печени ассоциируется с гиперглюкагонемией [403], это может вызывать повышенное окисление лейцина. Кроме того, у пациентов с циррозом снижено неокислительное перераспределение лейцина, что ведет к отсутствию ингибирования эндогенного распада

белка, обычно происходящего при введении смеси аминокислот [257]. Эти изменения могут быть причиной уменьшения количества жировой ткани и массы тела при циррозе [256]. Одним из характерных признаков цирроза печени является снижение синтеза альбумина [40]. Показано, что АРУЦ способствуют синтезу альбумина посредством сигнального механизма с участием mTOR [175]. В ответ на инфузию смеси аминокислот у крыс с экспериментальным циррозом печени повышается как высвобождение АРУЦ (в результате протеолиза), так и, одновременно, включение лейцина в белки. Степень окисления лейцина в организме зависит от того, что превалирует в качестве энергетических субстратов – липиды или углеводы. При неалкогольном стеатогепатите снижается синтез белка апо-В-100 (хотя при этом синтез альбумина может быть не нарушен), что способствует накоплению липидов в печеночной дольке [213].

Экспрессия генов и биогенез митохондрий

У мышей обогащенный АРУЦ рацион стимулирует экспрессию рецептора PGC-1 α , основного регулятора биогенеза митохондрий и системы защиты от активных форм кислорода, а также протеина сиртуин-1, из семейства белков-сиртуинов, как считается, связанных с продолжительностью жизни. Показано, что активация биогенеза митохондрий и снижение продукции свободных радикалов приводит к повышению продолжительности жизни мышей-самцов [119]. Дополнительное введение АРУЦ индуцирует экспрессию генов, участвующих в системе антиоксидантной защиты, ингибирует продукцию свободных радикалов кислорода, а также стимулирует печеночную экспрессию мРНК, кодирующей 8-оксигуанин ДНК гликозилазу-1, фермента, участвующего в репарации окислительных повреждений ДНК [173].

В разных типах клеток АРУЦ, особенно лейцин, способствует синтезу гликогена. Способность лейцина повышать синтез гликогена показана как у нормальных крыс, так и у животных с циррозом печени. Кроме того, активация АРУЦ mTORC1 также сопровождается ускорением роста клетки и PGC-1 α -опосредованной экспрессией митохондриальных генов [97]. Помимо повышения активности PPAR- γ , назначение АРУЦ

снижает концентрацию триглицеридов в печени мышей. Эти данные указывают, что добавки АРУЦ могут оказывать терапевтический эффект при метаболическом синдроме и ожирении.

Апоптоз и регенерация гепатоцитов

Добавки АРУЦ тормозят развитие CCl_4 -индуцированного хронического поражения печени у крыс, ингибируя апоптоз клеток печени [220]. С другой стороны, дополнительное введение АРУЦ способствует регенерации гепатоцитов, как это было показано у крыс на модели гепатэктомии печени [203]. Более того, АРУЦ стимулируют в гепатоцитах продукцию ростового фактора [379]. Таким образом, добавки АРУЦ, снижая интенсивность апоптоза гепатоцитов и способствуя регенерации печени, могут стимулировать восстановление функции органа после его поражения.

Синтез альбумина

Добавки АРУЦ активируют mTOR и повышают продукцию эукариотического фактора инициации 4E-связывающего белка-1 и рибосомальной протеинкиназы S6, что приводит к стимуляции синтеза альбумина [175]. Более того, высокие концентрации лейцина стимулируют поступление в ядро полипиримидин-связывающего белка, комплекс которого с мРНК альбумина и ускоряет процесс трансляции [219].

Инсулинорезистентность

Показано, что дополнительное введение АРУЦ улучшает гомеостаз глюкозы и суммарную оценку инсулинорезистентности (НОМА-IR), а также функцию β -клеток у пациентов с хроническими заболеваниями печени [195]. Показано, что у мышей отсутствие гена, кодирующего митохондриальную аминотрансферазу АРУЦ, фермента, который катализирует трансаминирование АРУЦ, ведет к увеличению концентрации этих аминокислот в плазме крови. У этих животных тощаковая глюкоза и концентрация инсулина были снижены, а показатель НОМА-IR был значительно ниже, чем у «дикого» типа мышей [346].

Поскольку печень является важным органом-мишенью для инсулина и играет ведущую роль в регуляции метаболизма, у пациентов с хроническими заболеваниями печени часто

выявляются различные нутритивные и метаболические нарушения. Одними из самых распространенных являются белково-энергетическая недостаточность и инсулинорезистентность [196]. Показано, что АРУЦ уменьшают инсулинорезистентность и толерантность к глюкозе. В частности, She et al. [346] показали, что у мышей, нокаутных по митохондриальной аминотрансферазе для АРУЦ, уровень этих аминокислот в сыворотке крови значительно повышен. У них снижено количество жировой ткани и заметно улучшается чувствительность к инсулину и глюкозе. АРУЦ оказывают благоприятный эффект на метаболизм глюкозы не только в печени, но и в скелетных мышцах и жировой ткани. В печени АРУЦ активируют глюкокиназу и транспортер глюкозы (GLUT)-2, одновременно подавляя экспрессию глюкозо-6-фосфатазы, которая катализирует конечные стадии глюконеогенеза. С другой стороны, повышенное содержание АРУЦ способствует потреблению глюкозы клетками путем активации фосфатидилинозитол-3-киназы и последующей транслокации GLUT-1 и GLUT-4 к плазматической мембране миоцитов [299].

У мышей, получающих высокожировую рацион, добавки АРУЦ также уменьшают инсулинорезистентность, препятствуя дисбалансу цитокинов, тормозят накопление липидов в печени [36]. Ряд клинических наблюдений указывает на улучшение толерантности к глюкозе после назначения добавок АРУЦ пациентам с хроническими поражениями печени [385].

Введение отдельно лейцина или изолейцина улучшало чувствительность к инсулину у мышей, получавших высокожировую рацион. АРУЦ транзиторно повышали концентрацию инсулина в плазме у молодых людей, хотя уровень глюкозы при этом не изменялся [416].

Таким образом, АРУЦ снижают инсулинорезистентность путем многоцелевого воздействия на клетки-мишени инсулина. В печени АРУЦ стимулируют метаболический путь с участием X рецептор/стерол-регуляторного элемент-связывающего белка-1с, а также активируют глюкокиназу и транспортер глюкозы. Одновременно АРУЦ тормозят печеночную экспрессию глюкозо-6-фосфатазы [162]. В жировой ткани лейцин повышает инсулин-индуцируемое фосфорилирование Akt и mTOR, увеличивая

потребление глюкозы адипоцитами. В скелетной мышце АРУЦ способствуют усвоению глюкозы путем активации фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и протеинкиназы C, а также последующей транслокации к плазматической мембране транспортера глюкозы. Кроме того, АРУЦ повышают уровень PPAR- γ в печени и скелетной мышце, стимулируя окисление свободных жирных кислот.

Онкогенез в печени

Прямые эффекты АРУЦ на опухолевые клетки печени в основном анализировали в культурах клеток. Повышенные концентрации АРУЦ в культуральной среде подавляют пролиферацию разных типов клеток гепатоцеллюлярной карциномы [372]. Лейцин, изолейцин и валин ускоряют деградацию мРНК инсулин-индуцируемого сосудистого эндотелиального ростового фактора (VEGF) на пост-трансляционном уровне, подавляют экспрессию VEGF в течение всего периода развития клеток гепатоцеллюлярной карциномы [268]. Показано также, что АРУЦ способствуют апоптозу опухолевых клеток печени, ингибируя инсулин-индуцируемые пути PI3K/Akt и NF κ B по mTORC1- и mTORC2-зависимым механизмам. Более того, АРУЦ могут ингибировать гепатокарциногенез, сопряженный с ожирением, подавляя стимулирующий эффект висфатина (visfatin), адипокина, играющего ведущую роль в пролиферации клеток гепатоцеллюлярной карциномы [149, 296].

Инсулин индуцирует пролиферацию клеток путем активации митоген-зависимого протеинкиназного пути. В свою очередь, АРУЦ ингибируют данный сигнальный каскад, подавляя экспрессию инсулиноподобного ростового фактора [177]. АРУЦ снижают индуцируемую инсулинорезистентностью экспрессию эндотелиального ростового фактора и, следовательно, способствуют подавлению опухолевого ангиогенеза.

Таким образом, можно предположить функционирование комплексного механизма с участием АРУЦ, приводящего к ингибированию пролиферации клеток гепатоцеллюлярной карциномы или гепатокарциногенеза (рис.13).

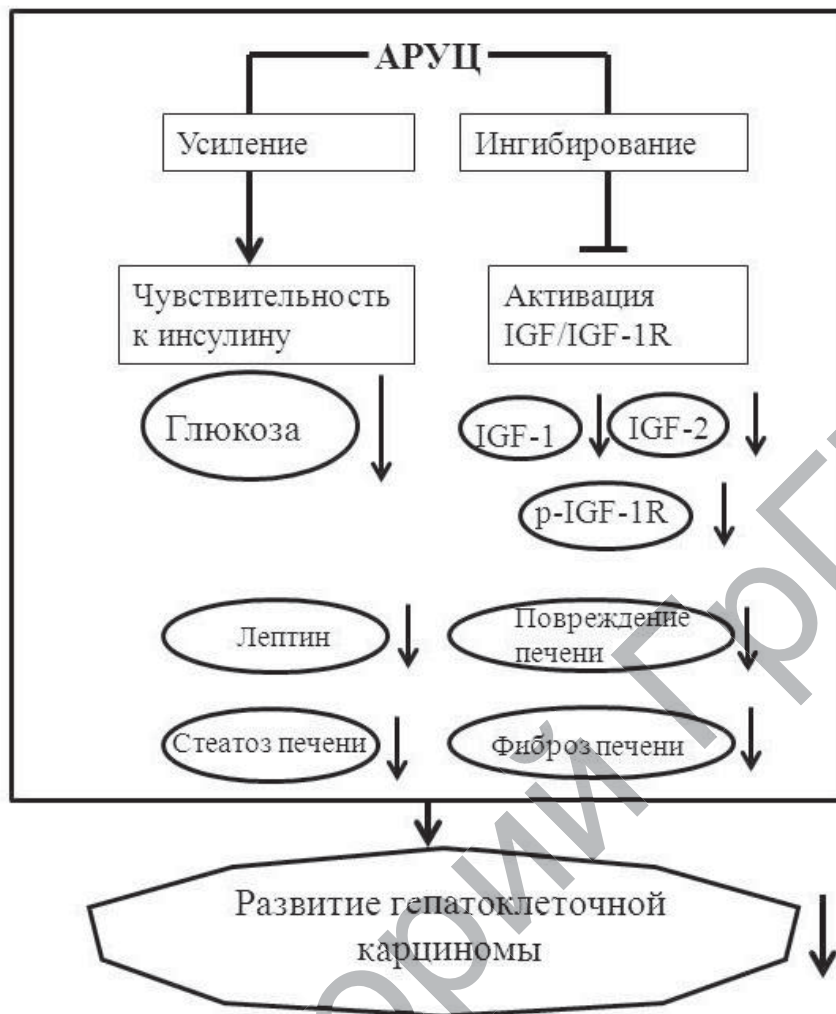


Рисунок 13 – Возможная схема воздействия АРУЦ на развитие канцерогенеза в печени

Иммунитет

Иммунитет и питание взаимосвязаны и взаимозависимы. Очевидна важность адекватного поступления в организм АРУЦ для обеспечения белкового синтеза, важного компонента для пролиферации лимфоцитов или созревания дендритных клеток. Недостаточность какой-либо из трех АРУЦ в культуральной среде заметно ингибирует фитогеммаглютенин-индуцируемую пролиферацию лимфоцитов. Так, при удалении валина из культуральной среды полностью останавливается пролиферация лимфоцитов. Однако увеличение концентраций АРУЦ в культуральной среде несущественно влияет на пролиферацию лимфоцитов, указывая на то, что АРУЦ требуются для пролиферации в оптимальных концентрациях в основном для

обеспечения биосинтеза белка. С другой стороны, обеспеченность АРУЦ оказывает незначительное влияние на функции зрелых макрофагов.

Исследования *in vivo* также подтвердили влияние АРУЦ на иммунную систему. Показано, что добавление АРУЦ к рациону повышает число внутрипеченочных лимфоцитов и стимулирует активность натуральных киллеров (NK-клетки), а также лектин-зависимую цитотоксичность в печени. Число внутрипеченочных лимфоцитов положительно коррелирует с концентрациями валина в плазме и печени. АРУЦ, особенно валин, также участвуют в созревании дендритных клеток. Например, валин дозозависимо повышал аллостимулирующую способность к продукции ИЛ-2 дендритными клетками, образующимися из моноцитов, полученных от здоровых добровольцев или пациентов с циррозом печени, развившимся вследствие хронического вирусного гепатита С (HCV) [185]. Эти данные указывают, что добавки валина могут оказывать благоприятный эффект при лечении пациентов с циррозом печени при HCV, восстанавливая активность иммунной системы, что в свою очередь может препятствовать гепатокарциногенезу. У пациентов с циррозом печени введение смеси АРУЦ повышает число печеночных лимфоцитов и восстанавливает фагоцитарную активность нейтрофилов и активность NK-лимфоцитов [285]. Кроме того, добавки АРУЦ повышают число лимфоцитов в крови у пациентов, перенесших хирургическое вмешательство. Наблюдается положительная корреляция между концентрацией АРУЦ и выживаемостью пациентов при сепсисе [123]. Эти данные показывают, что АРУЦ тесно связаны с созреванием и функцией различных типов иммунных клеток.

Клиническое применение АРУЦ при заболеваниях печени

Острое поражение печени

При острой интоксикации ацетаминофеном, галактозамином и другими гепатотоксинами быстро развивающийся аминокислотный дисбаланс и нарушение регуляции аминокислотно-белкового обмена приводит к гибели гепатоцитов. Фульминантный гепатит ассоциируется с резким повышением скорости катаболизма белка и нарушением

возможности удалять аммиак. Способность печени реагировать на инсулин и продуцировать глюкозу путем глюконеогенеза нарушается. Развитие гипогликемии показано как в экспериментах на животных, так и в клинических исследованиях [199].

Изменения со стороны обмена свободных аминокислот характеризуются низкими уровнями АРУЦ, повышенными концентрациями ароматических аминокислот и метионина [81]. Хотя благоприятный эффект добавок АРУЦ при остром поражении печени не доказан, энтеральная нутритивная поддержка считается необходимой. В ряде экспериментальных исследований показано, что АРУЦ могут предупреждать острое повреждение печени [207], хотя этот эффект у человека не исследовался. При остром поражении печени концентрации АРУЦ могут повышаться, не изменяться или даже снижаться [307].

Вирусный гепатит С

У пациентов с вирусным гепатитом С часто наблюдается инсулинорезистентность, которая ассоциируется с такими осложнениями, как гепатостеатоз, нарушения метаболизма глюкозы и карциногенез. АРУЦ, особенно лейцин, оказывают благоприятное действие на метаболизм глюкозы при лечении пациентов с хроническим гепатитом С, особенно имеющих выраженную периферическую инсулинорезистентность, у которых добавки АРУЦ благоприятно влияют на концентрацию гликозилированного гемоглобина (хотя при этом другие параметры углеводного и липидного обмена могут изменяться незначительно) [373]. Мультицентровое рандомизированное исследование показало, что добавки АРУЦ предупреждают развитие гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с ожирением, инфицированных вирусом гепатита С. Более того, лечение с использованием АРУЦ способствует восстановлению эффектов интерферона, нарушенных в результате общей белково-энергетической недостаточности, вследствие активации сигнальных путей mTOR и FoxO у пациентов с хроническим гепатитом С [170]. Так, показано, что добавки валина уменьшали вирусную нагрузку при гепатите С, повышая функциональную

активность дендритных клеток и/или сигнальную функцию интерферона [277]. Следовательно, добавки АРУЦ могут быть полезны при проведении интерферонотерапии у пациентов с хроническим гепатитом С, поскольку усиливают эффекты интерферона у этих пациентов.

Трансплантация печени

Белково-энергетическая недостаточность является признаком терминальной стадии поражения печени, требующей трансплантации органа, и является фактором риска, увеличивающим пост-трансплантационную смертность. Наблюдения за 50 реципиентами, получившими донорскую печень, показали, что отсутствие назначения АРУЦ в предоперационном периоде является независимым фактором риска возникновения тяжелых инфекционных осложнений в пост-операционном периоде и повышения госпитальной смертности. У экспериментальных животных и человека частичная резекция печени стимулирует регенераторный ответ, реализуемый при участии ряда циркулирующих факторов, включая фактор роста гепатоцитов и плеiotропную субстанцию с митогенной активностью, которая также предупреждает гепатотоксин-опосредованное поражение печени. Субстанция секретируется звездчатыми клетками печени, а АРУЦ, особенно лейцин, являются сильными стимуляторами продукции этого фактора. Поскольку АРУЦ не только являются субстратами для синтеза белка, но и ускоряют метаболизм глюкозы, это способствует регенерации печени. Раннее начало введения АРУЦ может продлить период ожидания донора, поддерживая функциональную активность печени реципиента. Ретроспективный анализ также показал, что лечение добавками АРУЦ до трансплантации печени может снижать частоту посттрансплантационной бактериемии [349].

АРУЦ при циррозе печени

АРУЦ составляют значительную часть пищевых аминокислот. В смешанной пище содержание АРУЦ составляет 20-25% от общего содержания белка. Оно выше в молочных продуктах и овощах, чем, вероятно, можно объяснить

благоприятные профилактические эффекты молочных продуктов или растительного белка на развитие печеночной энцефалопатии и формирование азотистого баланса. У лиц, потребляющих белок в количестве 1 г/кг массы тела, общее потребление АРУЦ оценивается в 10–15 г/сутки. Это количество легко удваивается при пероральном назначении АРУЦ в виде пищевых добавок или в виде внутривенных растворов.

У пациентов с циррозом печени часто регистрируется ускорение окисления жирных кислот и развитие общего катаболического статуса. Энергетическая эффективность АРУЦ выше, чем глюкозы или жирных кислот, что указывает на то, что аминокислоты – более предпочтительный энергетический субстрат для пациентов с циррозом печени. Показано, что добавки АРУЦ улучшают метаболизм белка и липолиз у пациентов с циррозом [409]. Протоколы лечения пациентов с прогрессирующим циррозом в странах Европы и Японии рекомендуют включать добавки АРУЦ [318, 214].

При печеночной недостаточности дополнительное назначение АРУЦ оказывает благоприятный эффект, поскольку они не метаболизируются в печени. Белковая недостаточность у пациентов с циррозом печени ведет к гипоальбуминемии с последующим развитием отеков и асцита, тогда как энергодефицит снижает мышечную и жировую массу, вызывает слабость скелетных мышц, снижая качество жизни пациентов.

Химически индуцированный экспериментальный цирроз печени у крыс приводит к увеличению активности печеночной дегидрогеназы разветвленных кетокислот и снижению в плазме АРУЦ и концентрации разветвленных кетокислот, указывая на повышенную потребность в этих аминокислотах при циррозе. Активность ферментов в пути катаболизма валина кротоназы и β -гидроксиизобутирил-КоА гидролазы очень важны в регуляции митохондриальной концентрации медленно метаболизируемого метакрилил-КоА. Этот ацил-КоА чрезвычайно токсичен, накапливается в митохондриях и активно реагирует со свободными тиоловыми соединениями. Было показано, что активности обоих вышеуказанных ферментов в печени человека значительно снижаются при циррозе и гепатоцеллюлярной карциноме, т.е. уменьшается способность удалять метакрилил-

КоА, что вызывает истощение пула КоASH и каскад негативных последствий [18].

Первоначальное научное обоснование использования АРУЦ заключалось в том, что они повышают молярное соотношение АРУЦ/ароматические аминокислоты, чем и объясняли наблюдаемый клинический эффект [16]. Позднее было показано, что прием АРУЦ-содержащих препаратов улучшает метаболический профиль, в том числе тканевое дыхание [288], препятствует прогрессированию печеночной энцефалопатии [102]. Одновременная активация сигнального каскада mTOR в печени способствует синтезу альбумина и гликогена в мышечной ткани.

Показано, что коэффициент Фишера (соотношение АРУЦ/ААК) в плазме обычно составляет 3,0-3,5. Поскольку увеличение в плазме ароматических аминокислот обусловлено повышенной деградацией мышечных белков и снижением их метаболизма в печени, коэффициент Фишера обычно падает <2,0 в соответствии с тяжестью заболевания [286]. С другой стороны, альбумин сыворотки крови у человека является наиболее распространенным белком плазмы и составляет около 50% от общего содержания белка. Пациенты с прогрессирующим циррозом имеют гипоальбуминемию, вызванную снижением биосинтеза альбумина в гепатоцитах. Синтез и секреция альбумина в гепатоцитах были наиболее активными при индексе Фишера в среде, равном 3 [306]. Соответственно, назначение добавок АРУЦ пациентам с циррозом препятствует появлению гипоальбуминемии и улучшает прогноз дальнейшего развития патологического процесса. Кроме того, добавки АРУЦ снижают частоту возникновения гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с циррозом [276].

В некоторых исследованиях пациенты получали аминокислоты, содержащие только АРУЦ, в течение нескольких дней в дозах в 3–4 раза выше их обычного потребления. Хотя в этих исследованиях «токсических» эффектов не отмечено, не было получено и однозначно благоприятных результатов. Вероятно, обогащенные АРУЦ растворы для внутривенного введения более предпочтительны, чем инфузия растворов, содержащих только АРУЦ. При белково-энергетической недостаточности введение

только АРУЦ не позволяет возмещать заменимые нутриенты, которые могут становиться незаменимыми при наличии цирроза печени. Это показано, например, в отношении холина и некоторых других пищевых ингредиентов [16]. Оптимальное количество добавок АРУЦ при заболеваниях печени сложно установить. Считают, что пероральные добавки АРУЦ могут быть полезны для обеспечения пациентов дополнительным количеством белка. Назначение АРУЦ-содержащих препаратов, вероятно, должно ограничиваться пациентами, не переносящими белок и в количестве 1 г/кг массы в сутки, но при этом следует избегать чрезмерного уменьшения количества потребляемого белка. У этих пациентов положительный азотистый баланс обычно достигается назначением АРУЦ в дозе 0,25 г/кг массы, что не увеличивает риск развития печеночной энцефалопатии.

В рандомизированных исследованиях, показавших положительное действие добавок АРУЦ, их доза составляла в среднем 28 г/день (от 11 до 57 г), при средней продолжительности приема 7 дней (от 4 до 90 дней). В целом АРУЦ проявляли больший терапевтический эффект при приеме внутрь, чем в случае внутривенного введения. Они были более эффективны у пациентов с хронической энцефалопатией, чем при назначении пациентам при острой энцефалопатии.

Одна из основных причин ограниченного использования АРУЦ – неприятный вкус. Недавно была предложена гранулярная форма смеси лейцина, изолейцина и валина, обладающая улучшенными вкусовыми качествами (Livact, Ajinomoto). Используя эту гранулярную форму, Muto et al. [275] провели мультицентровое, рандомизированное, контролируемое исследование сравнительных эффектов перорально назначаемых АРУЦ в дозе 12 г/день в течение 2 лет по сравнению с обычной терапией, не содержащей АРУЦ. В исследовании приняли участие 646 пациентов с циррозом печени. Это исследование позволило доказать терапевтическую эффективность смеси АРУЦ в предупреждении осложнений цирроза.

Назначение АРУЦ существенно снижало частоту осложнений, таких как печеночная недостаточность, повышенная проницаемость расширенных вен пищевода и смертность, по сравнению с пациентами, потребляющими обычный рацион

[275]. Более того, добавки АРУЦ у пациентов с прогрессирующим циррозом печени улучшали толерантность к глюкозе, повышали уровень альбумина в крови. Добавки АРУЦ были эффективны как у пациентов с компенсированным, так и декомпенсированным циррозом [148]. Добавки АРУЦ улучшали белковый статус у пациентов, особенно на ранних стадиях развития цирроза печени, увеличивая уровень альбумина, повышая общую массу паренхимальных клеток печени. Лечение, включающее дополнительное введение АРУЦ, улучшало нутритивный статус и снижало частоту инфузий альбумина у детей на заключительных стадиях заболеваний печени [83]. Таким образом, дополнительное введение АРУЦ эффективно улучшает нутритивный статус пациентов с циррозом печени независимо от их возраста и стадии заболевания. Добавки АРУЦ, кроме того, улучшают качество жизни пациентов с циррозом. Они уменьшают проявления мышечной слабости и улучшают психологический статус.

АРУЦ при печеночной энцефалопатии

Субклиническая печеночная энцефалопатия, присутствующая у 75% пациентов с циррозом, может нарушать качество жизни и требовать лечения [69]. Иногда необходимо ограничивать потребление белка в течение короткого промежутка времени. В редких случаях, когда пациент не способен переносить стандартные пищевые белки в дозах до 1,0 г/кг в сутки и у него, несмотря на фармакологическое лечение, развивается энцефалопатия, должны быть использованы добавки с растительными белками, и если необходимо – смеси, обогащенные АРУЦ. После прекращения прогрессирования печеночной энцефалопатии рекомендуют вернуться к полноценному рациону, способствующему восстановлению положительного азотистого баланса. У пациентов с прогрессирующим циррозом печени энцефалопатия часто развивается после кровотечений в желудочно-кишечном тракте, возможно, вследствие отсутствия в молекулах гемоглобина изолейцина и большого содержания лейцина, что приводит к антагонизму среди АРУЦ и общему аминокислотному дисбалансу [319].

Важный вклад в нарушение функций ЦНС вносит дисбаланс катехоламиновых нейротрансмиттеров, регулирующих процессы возбуждения и торможения, синтез которых во многом определяется доступностью ароматических аминокислот. Аминокислотный дисбаланс, ведущий к снижению индекса Фишера при экспериментальном или клиническом поражении печени, подтвержден многократно. Так, он имеет место у крыс, подвергнутых острому (24 ч) или более длительному (1–2 нед.) портокавальному шунтированию с лигированием желчных протоков или без оногo. В модели поражения печени средней тяжести также наблюдается снижение коэффициента Фишера. Аналогичные результаты получены в модели цирроза печени у крыс, вызванного тетрахлорметаном, возможно, одной из лучших моделей экспериментального цирроза [61]. Несмотря на резкое увеличение концентраций большинства аминокислот, включая АРУЦ и ароматические аминокислоты, соотношение Фишера снижается при острой ишемии печени у крыс, указывая на то, что изменение индекса Фишера может играть патофизиологическую роль и в этой ситуации. У крыс с тотальной гепатэктомией также повышены концентрации фенилаланина и тирозина, тогда как содержание АРУЦ снижено. Это показывает, что преимущественное значение имеет нарушение метаболической функции печени. Равным образом снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера и усиление транспорта фенилаланина из мозга обратно в кровь может быть следствием высокой концентрации фенилаланина в ткани мозга при печеночной энцефалопатии [110]. У собак и крыс печеночная кома вызывала увеличение в ткани мозга концентраций триптофана, тирозина, фенилаланина, с менее выраженными изменениями содержания АРУЦ в ткани. Существенно менее выраженные изменения наблюдали также на моделях портокавального шунтирования у крыс с печеночной энцефалопатией. В этом контексте замечено, что уровни АРУЦ в значительной степени определяются пищевыми факторами, тогда как содержание ароматических аминокислот в большей степени зависит от внутриорганного печеночного метаболизма.

Альбумин обладает высокой способностью связывать триптофан и, следовательно, уровень в плазме свободного

триптофана обратно коррелирует с концентрацией альбумина в плазме. Получается, что низкие уровни альбумина, в том числе при хронической печеночной недостаточности, могут способствовать повышенному потреблению триптофана клетками мозга вследствие повышенной доступности свободного триптофана. В гипотезе, указывающей на роль свободных аминокислот в патогенезе печеночной энцефалопатии, патофизиологическое значение придается изменениям в ткани мозга концентраций ароматических аминокислот и их метаболитов.

Кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта у пациентов со здоровой печенью ведут к внезапному падению в плазме концентрации изолейцина, а также постепенному увеличению в плазме валина и лейцина, а также фенилаланина и тирозина, без изменения уровней триптофана и аммиака. Подобные изменения концентраций аминокислот в плазме наблюдали и у пациентов с циррозом при кровотечении из верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Это результат того, что распадаются белки крови, – главным образом гемоглобин, белок с низкой биологической ценностью, который вносит вклад в развитие уремии и гипераммониемии [126]. Ряд метаболических нарушений, включая гипераммониемию, вызванных кровотечением могут быть скорректированы одновременным внутривенным введением изолейцина, который, модифицируя пул АРУЦ, улучшает аминокислотный баланс в физиологических жидкостях.

Связь между аминокислотным дисбалансом и метаболизмом аммиака позволяет на практике использовать разработанные биохимиками технологии снижения гипераммониемии и способы восстановления индекса Фишера. До недавнего времени исследователи использовали для снижения содержания аммиака уменьшение потребления аминокислот и стимуляцию абсорбции аммиака. Если в физиологической ситуации 70% всего аммиака, образуемого почками, высвобождается в почечную вену, а оставшиеся 30% экскретируются с мочой, то в ситуациях тяжелой гипераммониемии это соотношение обратное, и почки становятся основным органом выведения аммиака из организма.

До настоящего времени лечение пациентов с печеночной энцефалопатией часто ограничивается снижением потребления пищевых белков и предупреждением повышения уровня аммиака в крови. Потребление белка, однако, не играет ведущей роли в развитии энцефалопатии. Показано, что подавление эндогенного распада белка более эффективно, чем введение пищевых ограничений с целью снижения нагрузки аминокислотами на декомпенсированную печень. К тому же потребление белка менее чем 40 г/день может приводить к развитию отрицательного азотистого баланса, который обусловлен повышением катаболизма эндогенных белков, что усиливает проявления энцефалопатии, тогда как положительный азотистый баланс играет позитивную роль при данной патологии. Следовательно, использование пищевых добавок, содержащих АРУЦ, может оказать благоприятный эффект у пациентов с печеночной энцефалопатией, главным образом компенсируя снижение соотношения АРУЦ/ароматические аминокислоты, одновременно не оказывая существенного влияния на уровень аммиака в крови.

В двух рандомизированных исследованиях показано, что добавки АРУЦ в незначительной степени предупреждают печеночную энцефалопатию у пациентов с прогрессирующим циррозом, однако препятствуют прогрессированию поражения печени [275]. Проведенное рандомизированное слепое, мультицентровое исследование по оценке влияния добавок АРУЦ на развитие печеночной энцефалопатии показало, что АРУЦ тормозят этот процесс, препятствуют снижению мышечной массы [229]. Более того, показано, что именно пероральное, но не внутривенное введение смеси АРУЦ уменьшает клинические проявления печеночной энцефалопатии [137]. Пероральный прием АРУЦ пациентами с циррозом печени особенно эффективен у пациентов с выраженными симптомами печеночной энцефалопатии, хотя при этом не было отмечено влияния на продолжительность жизни этих пациентов [136].

АРУЦ при гепатоцеллюлярной карциноме

Исследования показывают, что ожирение, стеатоз печени и печеночный карциногенез связывают общие патофизиологические механизмы, среди которых важное место

занимают инсулинорезистентность и активация провоспалительного каскада. Сам инсулин и клеточные сигнальные механизмы с его участием играют важную роль в онкогенезе [89]. Инсулинорезистентность повышает биологическую активность IGF-1, важного эндокринного и паракринного регулятора метаболизма и роста тканей.

Связывание инсулина и IGF-1 с клеточными рецепторами на опухолевых и предопухолевых клетках активирует фосфатидилинозитол-3-киназу/Akt, которая регулирует рост клеток, пролиферацию и их жизнеспособность. Инсулинорезистентность и повышенная масса жировой ткани способствуют развитию клеточного окислительного стресса, повышают экспрессию провоспалительных цитокинов, включая ФНО α и ИЛ-6, которые, в свою очередь, стимулируют развитие, рост и метастазирование опухоли. Окислительный стресс способствует повреждению структур клетки, включая ДНК, и активирует фосфатидилинозитол-3-киназу/Akt. Оба эти процесса играют ключевую роль в развитии рака.

Инсулин индуцирует пролиферацию клеток гепатоцеллюлярной карциномы и делает их резистентными к апоптозу. Одновременно, инсулинорезистентность повышает риск рецидива гепатоцеллюлярной карциномы после радиотерапии у пациентов с гепатитом С. Одновременно она также способствует повышению экспрессии ФНО α , ассоциирующей с развитием стеатоза и воспаления в печени (стеатозогепатит). При печеночном карциногенезе наблюдается активация пути IGF/IGF-1R. Высокий уровень лептина после лечения, который стимулирует рост клеток гепатоцеллюлярной карциномы, также повышает риск рецидива опухоли.

Неалкогольное ожирение печени (NAFLD), которое, как известно, является печеночным проявлением метаболического синдрома, – распространенная форма хронического поражения печени в развитых странах. Неалкогольное ожирение печени включает спектр расстройств от простого стеатоза до неалкогольного стеатогепатита (NASH), который может прогрессировать в цирроз и, следовательно, способствовать развитию гепатоцеллюлярной карциномы. Ретроспективные данные показывают, что от 4 до 27% случаев NASH после

развития цирроза прогрессирует в гепатоцеллюлярную карциному. Инсулинорезистентность считается ведущим фактором в этиологии NASH. Поток жирных кислот в печень и инсулинорезистентность приводят к накоплению липидов в печени, что вызывает воспалительные изменения в органе [104]. Повышенная экспрессия ФНО α и повышенный уровень лептина также имеют место у пациентов с NASH [104].

Мишень млекопитающих к рапамицину (mTOR) активируется разными факторами – такими как нутриенты, энергетические субстраты, стрессовые факторы и факторы роста, влияние которых связывает клеточный метаболизм с ростом и пролиферацией клеток [320, 419]. mTOR образует два различных мультиферментных комплекса: mTORC1 и mTORC2. mTORC1, который чувствителен к рапамицину, фосфорилирует и активирует p70 S6 киназу, а киназа в свою очередь фосфорилирует рибосомальный белок S6, приводя к стимуляции биосинтеза белка. Активированный mTORC1 одновременно фосфорилирует eIF4E-связывающий белок 1 (4E-BP1), что способствует образованию иницирующего комплекса, необходимого для синтеза белка. Показано, что аминокислоты (особенно лейцин) регулируют биосинтез белка, воздействуя на mTOR, в том числе активирует mTOR в клетках карциномы печени. Нарушение регуляции лейцином элементов пути mTOR может включать компоненты PKB/Akt, PI3K, 4E-BP1, eIF4E, Rheb, S6K1, LKB1, PTEN и TSC1/TSC2, как это наблюдается при многих типах опухолей (рис.16) [320, 419].

Клинические исследования показали, что добавки АРУЦ могут быть полезны для профилактики и лечения гепатоцеллюлярной карциномы [85]. При ожирении у пациентов с вирусным гепатитом С и циррозом печени показано, что добавки АРУЦ препятствуют развитию гепатоцеллюлярной карциномы, снижая частоту возникновения опухоли приблизительно на 30% в течение 3 лет [276]. На пациентах с компенсированным циррозом печени, вследствие прогрессирующего вирусного гепатита С, показано, что пероральные добавки АРУЦ также снижают частоту гепатоцеллюлярной карциномы (15,8% против 25,0% в группе сравнения) [210].

Ретроспективный анализ среди пациентов с циррозом доказал, что частота гепатоцеллюлярной карциномы значительно ниже при назначении АРУЦ-содержащих препаратов. Показано, что комбинация АРУЦ и ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента эффективно предупреждала развитие гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с инсулинорезистентностью [411].

В длительном, мультицентровом, рандомизированном исследовании (n=622), проведенном в Японии с 1997 по 2003 гг., изучены последствия дополнительного назначения АРУЦ пациентам с декомпенсированным циррозом. Было показано, что пероральное назначение добавок АРУЦ достоверно снижало прогрессирование поражения печени и улучшало клинический статус пациентов. Длительный прием добавок, содержащих АРУЦ, снижал частоту возникновения гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с декомпенсированным циррозом и ожирением. Полагают, что одним из механизмов благоприятного действия АРУЦ является улучшение метаболизма глюкозы, поскольку изначально эти пациенты имели инсулинорезистентность и гиперинсулинемию [261]. Nagiawara et al. [149] показали, что АРУЦ подавляют инсулин-индуцируемую пролиферацию клеток гепатоцеллюлярной карциномы, ингибируя стимулируемую инсулином активацию сигнального механизма с участием фосфатидилинозитол-3-киназы/Akt, что проявляется последующим анти-апоптотическим эффектом.

Показано, что добавки АРУЦ существенно уменьшают развитие пре-неопластических изменений в печени у мышей с ожирением и у линии мышей с инсулиннезависимым диабетом db/db, ингибируя экспрессию IGF-1, IGF-2 и IGF-1R в печени [177]. Развитие опухолевого процесса в печени, включая аденому и гепатоцеллюлярную карциному, также снижалось при назначении АРУЦ, и это сопровождалось подавлением инсулинорезистентности, снижением в сыворотке уровня лептина и торможением развития печеночного стеатоза и фиброза [177]. Yoshiji et al. [410] обнаружили, что протективный эффект АРУЦ (в отношении развития гепатоцеллюлярной карциномы) ассоциируется с подавлением экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста и неоваскуляризации печени.

Клеточная чувствительность относится к важному опухолевосенствительному супрессорному механизму. Добавки АРУЦ уменьшают частоту возникновения гепатоцеллюлярной карциномы, воздействуя на сигнальный путь mTOR, который вносит существенный вклад в образование опухолевых белков. Ряд опухолевых супрессоров, таких как p53, p21, p16, Arf и pRB, функционируют как регуляторы клеточной чувствительности [73].

Большей части линий опухолевых клеток человека для пролиферации требуется активация теломеразы. Хотя эктопическая экспрессия теломеразы человека обратной транскриптазой (hTERT) в нормальных клетках заторможена, она индуцируется при неопластической трансформации [208] и способствует онкогенезу. Ингибирование теломеразы в раковых клетках ограничивает пролиферацию. В дополнение к стратегии ингибирования теломеразы, как мишени терапии соответствующими химиотерапевтическими средствами, которые вызывают повреждение ДНК, можно иными способами попытаться индуцировать чувствительность разных типов опухолевых клеток в культуре и *in vivo*. Показано, что добавки АРУЦ могут также использоваться в онкологии с целью ингибирования активности теломеразы. Лечение химиотерапевтическими средствами в комбинации с АРУЦ повышает их эффективность.

Нутритивная поддержка, особенно энтеральная, улучшает прогноз у пациентов с циррозом, подвергающихся оперативному лечению – гепатэктомии. Добавки АРУЦ после гепатэктомии способствовали быстрому улучшению метаболизма белка и тормозили развитие цирроза печени [333]. Еще в одном рандомизированном исследовании показано, что пероральное назначение АРУЦ после гепатэктомии по поводу гепатоцеллюлярной карциномы значительно уменьшало частоту рецидива карциномы в течение 30 мес. [174]. Назначение АРУЦ снижает продолжительность нахождения в стационаре и улучшает функцию печени в раннем послеоперационном периоде [304].

Назначение АРУЦ до хемотреболлизации полезно для сохранения функции печени [297]. Использование АРУЦ после

хемоземболизации также предупреждает нарушение функции печени в послеоперационный период и улучшает качество жизни, хотя в этом исследовании способность аминокислот предупреждать рецидивы карциномы не определялась [126]. Назначение АРУЦ улучшало нутритивный статус и повышало концентрацию АРУЦ при радиотерапии гепатоцеллюлярной карциномы [228]. Таким образом, добавки АРУЦ пациентам с гепатоцеллюлярной карциномой полезны как для сохранения у них функции печени, так и качества их жизни.

Заключение

Как уже указывалось, снижение коэффициента Фишера является метаболической характеристикой цирроза печени, и добавки АРУЦ направлены на нормализацию аминокислотного профиля и нутритивного статуса пациентов. Добавки АРУЦ улучшают не только соматическое состояние, но и улучшают прогноз и качество жизни у пациентов с циррозом печени. Добавки АРУЦ предупреждают развитие гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с циррозом печени. Одним из возможных механизмов является способность АРУЦ тормозить инсулин-стимулируемую пролиферацию опухолевых клеток, индуцируя апоптоз путем активации mTORC1 и mTORC2 [149]. Кроме того, важным механизмом является изменение под воздействием АРУЦ чувствительности клеток к цитокинам и ростовым факторам, что влияет на стимуляцию p21 протеина. Этот механизм включает и участие белка p53, поскольку он повышает транскрипцию p21 протеина [286].

Повышение инсулинорезистентности часто встречается у пациентов с хроническими заболеваниями печени и требует лечения, поскольку увеличивается риск недостаточности питания и канцерогенеза. АРУЦ воздействуют на органы-мишени для инсулина, такие как скелетные мышцы, жировая ткань и печень. Инфузии АРУЦ снижают уровень глюкозы в плазме у пациентов с прогрессирующим циррозом печени [198], а пероральное назначение АРУЦ снижает не только концентрацию глюкозы, но и уменьшает инсулинорезистентность у пациентов с хроническими заболеваниями печени, особенно, у мужчин [194]. Длительный прием АРУЦ улучшает толерантность к глюкозе у

пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и циррозом и может быть альтернативным способом лечения неалкогольного стеатогепатита [269] (рис.14).



Рисунок 14 – Механизм благоприятного действия АРУЦ при заболеваниях печени

В целом использование добавок АРУЦ считается безопасным. Сведения о побочных эффектах АРУЦ при их внутривенном или пероральном назначении малочисленны. Негативные симптомы варьируют от рвоты до болей в брюшной полости и диареи. Их частоту трудно оценить, но она не превышает 10-15% от всех случаев лечения. Побочные реакции, как правило, быстро исчезают после завершения курса лечения.

ГЛАВА 5

ОЖИРЕНИЕ И АМИНОКИСЛОТЫ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ

Свободные аминокислоты плазмы отражают баланс оборота белка (биосинтез и протеолиз), абсорбцию аминокислот пищи и особенности метаболизма индивидуальных аминокислот. Ожирение, не зависимо от этиологии, может оказывать влияние на все эти процессы. При повышенном потреблении пищи и/или снижении белкового синтеза (особенно в скелетных мышцах) в плазме могут повышаться концентрации многих аминокислот, включая АРУЦ. При длительном голодании распад белка в специфических тканях может уменьшаться, что приводит к снижению пула свободных аминокислот плазмы. Одновременно это может быть отражением и окислительного катаболизма некоторых аминокислот, более активно протекающего при голодании у животных с ожирением. Снижение уровней глюконеогенных аминокислот при голодании может быть также следствием повышенной скорости глюконеогенеза [374]. При ожирении часто наблюдается увеличение концентрации аланина в плазме, тогда как уровень другой глюконеогенной аминокислоты, глицина, падает. Увеличение циркулирующего уровня аланина обычно связывают с активацией катаболизма, поскольку аланин является важным переносчиком азота аминокислот из скелетных мышц в печень и образуется в результате активированного анаэробного гликолиза и последующего трансаминирования.

Еще в 1960-х гг. было показано повышение содержания АРУЦ в плазме крови человека при ожирении. Эти работы вызывали интерес вследствие важнейшей роли АРУЦ как регуляторов биосинтеза белка, концентрации глюкозы, а также уровня лептина, сигнальной молекулы, контролирующей развитие жировой ткани и массу тела. Исследования на животных с ожирением показали, что скорость высвобождения аминокислот у самок с ожирением ниже, чем в контрольной группе [309]. Как уже указывалось ранее, АРУЦ являются важными нутриентами, влияющими на секрецию инсулина β -клетками и воздействующими на сигнальный каскад с участием mTOR в

большинстве тканей. Кроме того, через центральные и периферические механизмы они модулируют метаболизм глюкозы [227, 249, 360, 405]. Повышение содержания АРУЦ и их метаболитов считают “метаболическим маркером” ожирения, инсулинорезистентности и толерантности к глюкозе [292]. Полагают, что гипераминоацидемия, в противоположность гипергликемии, способствует сохранению инсулинорезистентности и, следовательно, гиперинсулинемии при ожирении [105]. Полагают [384], что гипераминоацидемия инсулиннезависимо повышает активность сигнального каскада mTOR и непосредственно влияет на биосинтез белка в скелетных мышцах и печени. Важность взаимосвязи между повышением содержания АРУЦ и развитием ожирения подтверждается и анализом аминокислотного спектра. Показано, что повышение концентраций АРУЦ, тирозина и фенилаланина имеют прогностическое значение при диабете 2 типа [402].

Казалось бы, уровень АРУЦ может повышаться просто потому, что лица с ожирением потребляют больше пищи, однако при ожирении повышенный уровень АРУЦ сохраняется и после ночного голодания [106]. Еще одним объяснением может быть то, что повышение АРУЦ при ожирении – результат повышенного катаболизма белка как следствие инсулинорезистентности. Действительно, Jensen and Naumond [179] показали, что протеолиз при ожирении активирован, и это является следствием нарушенного антипротеолитического действия инсулина [240]. Однако нельзя исключить и снижения интенсивности катаболизма АРУЦ [227].

Метаболизм АРУЦ тщательно регулируется изменениями клеточных концентраций этих аминокислот, и как следствие – колебаниями состава пищевого рациона [360, 405]. Исследования на трансгенных мышцах с разрушенной митохондриальной аминотрансферазой разветвленных аминокислот (BCATm) или киназой дегидрогеназы разветвленных кетокислот (BCKDH) подтвердили гипотезу о том, что дисрегуляция метаболизма АРУЦ – результат продолжительных изменений концентраций АРУЦ в плазме [182]. Более того, в других метаболических ситуациях, когда наблюдается повышение концентраций АРУЦ, как это имеет место при голодании или недостаточности белка в

пище, окислительный метаболизм АРУЦ и протеолиз могут вносить различный вклад в гомеостаз АРУЦ [352]. Возможно, причиной повышения АРУЦ при ожирении является нарушение окисления АРУЦ. В подтверждение этого предположения показано, что мРНК для ферментов метаболизирующих АРУЦ в жировой ткани, в большей степени экспрессированы у мутантных или трансгенных животных с фенотипом ожирения [160].

АРУЦ обладают уникальными метаболическими эффектами при ожирении. АРУЦ, и особенно лейцин, повышают секрецию лептина [242], снижают потребление пищи и массу тела [94], а также улучшают потребление глюкозы и в целом гомеостаз глюкозы в организме [347]. Однако, тем не менее, грызуны с ожирением (мыши *ob/ob* и крысы Zucker *fa/fa*) имеют повышенные уровни в плазме АРУЦ [347]. Связанное с ожирением повышение АРУЦ и их метаболитов наблюдали в плазме, тканях и суточной моче крыс линии Zucker. В то время как концентрации АРУЦ повышались в плазме и скелетной мышце, степень увеличения содержания разветвленных кетокислот была выше, указывая на то, что скорее эти кетокислоты, а не аминокислоты может быть основной метаболической детерминантой при ожирении.

Постулировано, что АРУЦ могут быть соединениями, обеспечивающими некоторые благоприятные эффекты высокобелковых рационов [48, 130, 141, 223, 226, 274]. В частности, добавки АРУЦ улучшают потребление глюкозы скелетной мышцей, общий метаболизм глюкозы в организме и ее окисление. Потенциальную связь между повышением содержания АРУЦ при ожирении и метаболизмом АРУЦ изучали, сравнивая воздействие ожирения и пищевого статуса на изменения содержания АРУЦ и количество или степень фосфорилирования первых двух ферментов метаболизма АРУЦ в ключевых тканях метаболизирующих эти аминокислоты (печень, скелетные мышцы), а также в жировой ткани, где присутствуют BCATm и BCKDH. В отдельных сериях экспериментов исследователи использовали мышей с разрушенным геном, кодирующим изофермент BCAT2. Среди тканеспецифических изменений ферментов, катаболизирующих АРУЦ, отмечено снижение в печени и жировой ткани субъединицы E1 α BCKDH,

чего не наблюдается, например, в мышечной ткани и что, вероятно, вносит вклад в повышение в плазме содержания АРУЦ при ожирении [346].

Обнаружена взаимосвязь между повышением в плазме концентрации АРУЦ, метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа [292]. Полагают, что повышенное содержание АРУЦ способствует гиперактивации киназы mTOR/p70S6, что увеличивает фосфорилирование сериновых остатков субстрата инсулинового рецептора-1, ингибируя таким образом фосфатидилинозитолкиназу. Торможение активности этого фермента ведет к нарушению сигнального механизма с участием инсулина и способствует развитию инсулинорезистентности [292].

Повышение содержания АРУЦ в плазме мышей ob/ob, а также при ожирении у мышей, индуцированном содержанием на высокожировом рационе, а также у генетически модифицированной линии крыс Zucker, сопровождается снижением активности и/или количества ферментов, функционирующих на начальных этапах катаболизма АРУЦ в печени и жировой ткани [348]. Интересно, что концентрации АРУЦ резко снижались в случае летального исхода у пациентов с ожирением после хирургической коррекции веса. Эти изменения были сравнимы с уменьшением АРУЦ в плазме, наблюдаемым при лечебном голодании [105]. Лечебное голодание сопровождалось повышением концентрации ВСАТm и E1- α субъединицы ВСКDH в висцеральной и подкожной жировой ткани. Наконец, связанные с ожирением колебания уровней АРУЦ у животных имели тенденцию к нормализации после ночного голодания. В некоторых случаях эти изменения, вероятно, могли быть следствием колебаний активности ВСАТm и/или ВСКDH в жировой ткани. Следовательно, можно предположить, что изменения массы жировой ткани и ее вклад в метаболизм АРУЦ в организме также могут вносить вклад в повышение концентраций АРУЦ при ожирении.

В различных экспериментальных моделях показано, что ожирение приводит к снижению экспрессии мРНК ферментов жировой ткани, участвующих в метаболизме АРУЦ [160]. Можно предположить, что уменьшение активности ферментов тормозит

метаболизм АРУЦ в жировой ткани. Падение активности ВСАТm и компонента E1 α ВСКDH может приводить к транзиторному локальному увеличению концентраций АРУЦ, которые в свою очередь могут действовать как нутриентный сигнал для активации сигнального комплекса mTOR и биосинтеза белка. Гиперфосфорилирование ВСКDH может быть результатом как локального увеличения АРУЦ в жировой ткани, так и гиперинсулинемии, имеющей место при ожирении, например, у мышей ob/ob. Повышение в плазме концентрации АРУЦ ассоциируется с улучшением толерантности к глюкозе и резистентностью к рацион-индуцированному ожирению у этих животных. Авторы исследования предположили, что повышенные биосинтез белка и распад аминокислот должны непосредственно повышать выработку энергии у мышей при отсутствии периферического метаболизма АРУЦ. Следовательно, увеличение уровня АРУЦ у животных с ожирением может носить компенсаторный характер. Действительно, существуют противоречивые данные об эффектах повышенного потребления лейцина на чувствительность к инсулину. Zhang показал, что повышенное потребление лейцина с пищей улучшает в организме метаболизм глюкозы при потреблении высокожирового рациона [415]. С другой стороны, имеются данные, что депривация лейцина в условиях инсулинорезистентности повышает чувствительность к инсулину в организме [406]. Депривация лейцина улучшала чувствительность к инсулину клеток печени, активируя общую не-ингибируемую киназу GCN2, снижала активность сигнального каскада mTOR/S6K1 и активировала цАМФ-зависимую протеинкиназу [406].

При голодании концентрации большинства свободных аминокислот в плазме мышей ob/ob снижаются, в отличие от «дикого» фенотипа мышей [340]. У мышей ob/ob отмечены также изменения уровней отдельных аминокислот, участвующих в формировании цикла мочевины. Аргинин, единственная аминокислота, уровень которой снижен у мышей ob/ob в сытом состоянии, еще больше снижается при голодании. В свою очередь уровень орнитина в плазме у этих животных повышен как в сытом, так и в голодном состояниях. Особенности содержания данных аминокислот указывают на изменение

интенсивности синтеза мочевины в печени, а именно, на блок цитозольных реакций (повышенные уровни орнитина, цитруллина) и/или существующий дефицит аргинина из-за повышенного его метаболизма, что может быть следствием более активного синтеза оксида азота. Постоянно сниженная биодоступность аргинина может оказывать влияние на состояние сосудов у мышей ob/ob [340].

Гипераминоацидемия и повышение в плазме концентрации лейцина способствуют повышению активности mTOR и активации протеинкиназы С. Эти сигнальные механизмы связаны с активацией синтеза белка, наблюдаемого у крыс с ожирением. Повышение размера печени и массы жировой ткани также может быть обусловлено увеличением скорости биосинтеза белка. Между тем, это повышение биосинтеза белка в скелетной мышце крыс с ожирением противоречит данным, указывающим на снижение или отсутствие изменения мышечной массы при ожирении, что, вероятно, обусловлено наличием компенсаторного распада белка. На повышенный протеолиз указывает повышение в моче 3-метилгистидина и оксипролина у крыс с ожирением. 3-Метилгистидин образуется в скелетных, а также других типах мышц, включая гладкие, так что источником его, так же как и оксипролина, может быть увеличение размеров желудочно-кишечного тракта и площади кожных покровов, имеющих место при ожирении.

Таким образом, если гипераминоацидемия у тощих животных обычно ассоциируется с повышенным синтезом белка и снижением распада белка, то, напротив, гипераминоацидемия у крыс с ожирением свидетельствует как об увеличении синтеза белка, так и его распада. Физиологические механизмы, которые снижают деградацию белка у тощих животных, в ответ на повышение содержания разветвленных аминокислот не функционируют при ожирении (катаболическая регуляция).

Данные о том, что у крыс линии Zucker с ожирением одновременно увеличивается скорость двух противоположных энергопотребляющих процессов, синтез белка и протеолиз, указывают на наличие футильного цикла для аминокислот, подобно тому, как это имеет место быть у животных с ожирением в отношении глюкозы, пирувата и триглицеридов.

Активированные футильные циклы должны способствовать бесполезной трате энергии, но не ожирению.

Доказано, что именно нарушение катаболической направленности метаболизма вносит вклад в увеличение уровня АРУЦ при ожирении. Повышение экскреции метаболитов АРУЦ с мочой у крыс линии Zucker согласуется с повышенным в целом катаболизмом АРУЦ. В частности, у крыс с ожирением повышено содержание в моче 3-ОН-изовалерилкарнитина. Повышение в моче этого метаболита свидетельствует о недостаточности 3-метилкротонил-КоА карбоксилазы. Показано, что при ожирении и инсулинорезистентности наблюдается down-регуляция экспрессии генов метаболического пути АРУЦ в печени и жировой ткани. Повышенная при ожирении экскреция ацилкарнитинов и 3-гидроксиацилкарнитинов может указывать на неполное β -окисление. Последнее может быть результатом повышенной доступности для тканей крыс с ожирением свободных жирных кислот на фоне инсулинорезистентности. Так, уровень изобутирилкарнитина (метаболита изолейцина) повышался при ожирении на 874%, т.е. более чем какой-либо другой метаболит, включая сами АРУЦ. Примерно в 8 раз повышается содержание C4-ОН ацилкарнитина. Вероятно, он образуется из 2-гидроксибутирата, концентрация которого зависит от степени инсулинорезистентности и толерантности к глюкозе. Гидроксипролин, метаболит, образующийся при распаде коллагена, также существенно повышается при ожирении. Возможно, это отражает процессы ремоделирования матрикса жировой ткани при ожирении.

Интересно, что включение в рацион свободных кетогенных незаменимых аминокислот улучшает толерантность к глюкозе, снижает липогенез и предупреждает стеатоз печени у мышей с ожирением. Показано, что у крыс, получавших смесь аминокислот (цистеин, метионин, валин, изолейцин и различные концентрации лейцина) одновременно с раствором, содержащим большие количества глюкозы, улучшалось толерантность к глюкозе по сравнению с животными, которым не вводили аминокислоты [53].

Показана способность смесей, содержащих АРУЦ, уменьшать дисфункцию миокарда у крыс с диабетом [313] и

поддерживать функцию почек у старых крыс [92]. При дополнительном введении АРУЦ происходит индукция эндотелиальной синтазы оксида азота и сосудистого эндотелиального ростового фактора в почках, что повышает васкуляризацию и снижает фиброз почек. При введении старым крысам и других незаменимых аминокислот наблюдали улучшение васкуляризации, повышение отложения коллагена и стимуляцию пролиферации фибробластов [93].

Введение АРУЦ эффективно уменьшало инсулинорезистентность у пациентов с хроническим вирусным гепатитом [195], и оказывало положительный эффект у пациентов с циррозом печени [167, 250, 289].

Таким образом, изменения активности АРУЦ-метаболизирующих ферментов согласуются с наблюдаемыми при ожирении изменениями концентраций АРУЦ в плазме в сытом и голодном состоянии. Концентрации АРУЦ при ожирении увеличены независимо от уровня глюкозы. Интересно, что уникальные изменения концентраций аргинина, орнитина и больших нейтральных аминокислот, включая АРУЦ, обнаружены у мышей ob/ob. В то время как активность других ферментов в скелетной мышце не изменяется, экспрессия киназы BCKDH при ожирении увеличивается. Повышаются активности ферментов, нарабатывающих ацилкарнитины, что может влиять на окисление жирных кислот и способствовать истощению пула свободного CoASH в клетках печени и жировой ткани. Полагают, что жировая ткань вносит более важный вклад в метаболизм АРУЦ в организме, чем считалось ранее. Дополнительное введение АРУЦ в сочетании с другими незаменимыми аминокислотами (в первую очередь с серосодержащими и аргинином) оптимизирует метаболические процессы при ожирении и уменьшает инсулинорезистентность.

ГЛАВА 6

ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН, ВАЛИН И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ СИСТЕМА

Метаболическое ремоделирование является интегральной частью патогенеза нарушений функции сердечной мышцы и сердечно-сосудистой системы в целом. Изменения функции сердечной мышцы сопряжены с выраженными модуляциями метаболизма в кардиомиоцитах. В прогрессирование сердечной недостаточности основной вклад вносит энергетическая недостаточность в кардиомиоцитах. В биоэнергетике стрессированного миокарда наблюдается постепенный переход от доминирующего окисления свободных жирных кислот в сторону гликолиза в качестве компенсаторного ответа на повышенную потребность миокарда в кислороде [388]. Этот метаболический сдвиг сопровождается параллельными изменениями профиля экспрессируемых генов. Однако торможение в кардиомиоцитах при патологических состояниях утилизации глюкозы и ингибирование окисления жирных кислот неизбежно приводят к недостаточной продукции энергии, особенно при повышении общей физической нагрузки. Очевидно, что модуляция потребления субстратов и энергообеспеченности могут оказывать существенное влияние на функции миокарда. В то время как основные исследования касаются исследования нарушений метаболизма жирных кислот и углеводов, к сожалению, гораздо меньше обращается внимания на обмен белков и аминокислот, за исключением редких случаев врожденных метаболических кардиомиопатий [147].

Как уже указывалось, АРУЦ являются незаменимыми аминокислотами и должны поступать с пищей. Помимо участия в синтезе белков, АРУЦ необходимы для синтеза стероидов, кетоновых тел и глюкозы. Несмотря на то, что молекулярные основы и регуляция потребления АРУЦ на уровне плазматических мембран клеток (включая энтероциты) остаются малоизученными, вероятно, наиболее важную роль играет L-тип транспортеров аминокислот, а также переносчиков глутамина и лейцина. Конечными продуктами окислительного катаболизма АРУЦ являются ацетил-КоА и сукцинил-КоА, которые, поступая

в ЦТК, способствуют продукции восстановленного НАДН и функционированию митохондриальной дыхательной цепи. Помимо этих метаболических функций, АРУЦ, особенно лейцин, проявляют выраженную сигнальную активность в клетках, способствуя синтезу белка и росту клетки, путем воздействия на mTOR-зависимый каскад. Следовательно, АРУЦ необходимы для нормального роста и функционирования как отдельных клеток, так и всего организма. Однако избыточные количества свободных АРУЦ или их продуктов катаболизма могут проявлять цитотоксические свойства. Болезнь мочи с запахом кленового сиропа, метилмалоновая ацидемия, пропионовая ацидемия – известные генетические нарушения, возникающие в результате дефектов в катаболизме АРУЦ. Клинические проявления данных генетических нарушений в основном касаются нервной системы, включают судороги и задержку психического развития.

Хотя большинство аминокислот метаболизируется в печени, катаболизм АРУЦ происходит в ряде внепеченочных тканей, включая сердечную мышцу, диафрагму, мозг и почки. Показана потенциальная роль катаболизма АРУЦ при патофизиологии сердца [172]. Метаболические эффекты накопления АРУЦ и разветвленных кетокилот могут негативно влиять на метаболизм в сердечной мышце [86]. Известно, что при пропионовой и малоновой ацидемиях, причиной которых могут быть врожденные нарушения метаболизма АРУЦ, часто развивается дилатационная и гипертрофическая кардиомиопатии [337, 124]. Очевидно, что сохранение гомеостаза АРУЦ необходимо для нормального протекания физиологических процессов, включая функционирование сердечной мышцы. АРУЦ и разветвленные кетокилоты ингибируют транспорт пирувата и жирных кислот, а также их утилизацию [298, 338]. Поскольку ткань сердца высокочувствительна от доступности пирувата и жирных кислот, как основных источников энергии, хроническое увеличение содержания АРУЦ и разветвленных кетокилот может блокировать нормальный биоэнергетический гомеостаз в сердце, приводя к контрактильной дисфункции и ускорению повреждения кардиомиоцитов при повышенной механической нагрузке.

При сканировании генома была обнаружена митохондриальная серин/треониновая фосфатаза, названная PP2C (PP2Cm) [237]. С помощью протеомного и биохимического анализа установлено, что PP2Cm является эндогенной фосфатазой дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот, отвечающей за АРУЦ-индуцируемое дефосфорилирование и активацию дегидрогеназного комплекса. Как и ожидалось, у PP2Cm-дефицитных мышей была нарушена регуляция активности дегидрогеназы, что приводило к достоверно более высоким концентрациям АРУЦ и разветвленных кетокислот как в нормальных условиях, так и при введении большой дозы АРУЦ [238].

У взрослых мышей PP2Cm активно экспрессируется в кардиомиоцитах, а также в клетках ЦНС [237], что хорошо коррелирует с активностями дегидрогеназного комплекса, регистрируемыми в этих тканях. Экспрессия PP2Cm в сердце динамически изменяется при стрессе. Как уровень мРНК, так и количество белка достоверно уменьшаются при гипертрофии и нарушении функции миокарда [237]. Это еще раз подтверждает потенциальную роль АРУЦ и значение регуляции их содержания в сердечной мышце как при физиологических, так и при патологических состояниях. Однако не ясно, является ли изменение экспрессии PP2Cm и нарушение катаболизма АРУЦ феноменом, связанным с молекулярным и метаболическим ремоделированием стрессированного миокарда, или она играет активную роль в общей патологии сердца.

Инактивация PP2Cm ведет к дозозависимой потере контрактильности сердечной мышцы и преждевременной смерти [172, 237]. При этом также наблюдается индукция апоптоза в изолированных миоцитах желудочков сердца. Это исследование доказывает, что катаболизм АРУЦ необходим для нормальной деятельности сердечной мышцы, и что PP2Cm-зависимая регуляция катаболизма АРУЦ может вносить вклад в патофизиологию сердечной мышцы (рис.15).

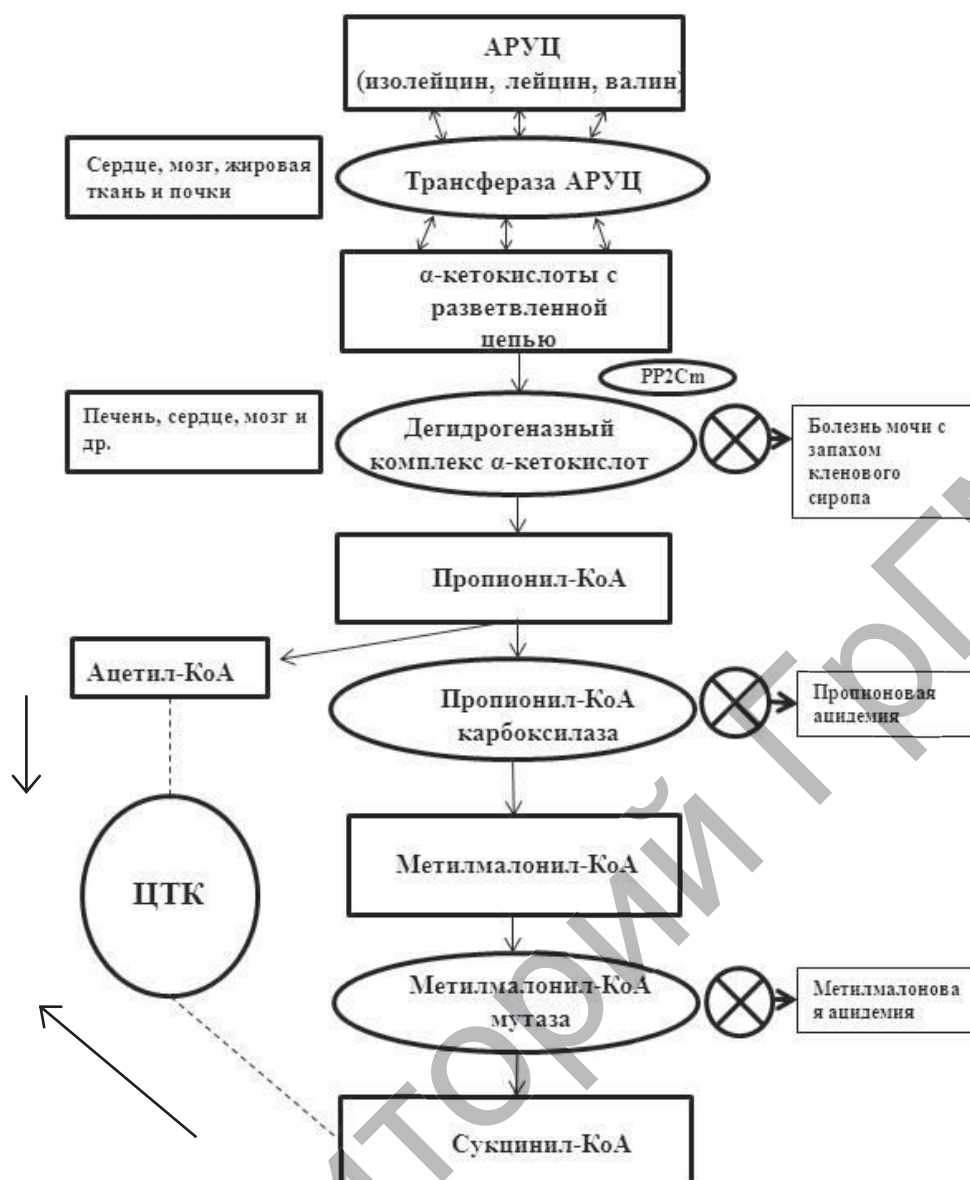


Рисунок 15 – Регуляция и вклад торможения катаболизма АРУЦ в метаболический дисбаланс миокарда

Содержание активных форм кислорода, которые оказывают существенное влияние на жизнеспособность клеток, также значительно повышается в клетках и тканях при недостаточности PP2Cm. PP2Cm-дефицитные митохондрии более чувствительны к кальций-индуцированному открытию транспортных каналов в отсутствие внешнего градиента – разветвленные кетокислоты/АРУЦ [237]. Эти данные показывают, что PP2Cm в качестве митохондриальной матричной фосфатазы может прямо или опосредованно влиять на регуляцию функций и жизнеспособность кардиомиоцитов путем модуляции генерации

свободных радикалов кислорода и изменения проницаемости митохондриальной мембраны.

Важно отметить, что содержание мРНК PP2Cm выше всего в ткани мозга, сердечной мышце и мышце диафрагмы у взрослых мышей, но не в скелетной мышце и других тканях [237]. Это свидетельствует о том, что возможности катаболизма АРУЦ выше в жизненно важных органах, которые являются высокочувствительными от поступления энергодающих субстратов. Это позволяет сделать заключение о том, что в ситуации использования АРУЦ в качестве источника энергии, такие ткани, как сердце, мозг и диафрагма должны иметь приоритетное значение. Это может быть особенно важным в условиях недостаточного поступления нутриентов. В свою очередь хроническая белково-энергетическая недостаточность быстрее приводит к слабости скелетной мышцы, тогда как гораздо дольше сохраняются функциональная активность и структурная целостность сердечной и диафрагмальной мышц.

Хотя при окислительном стрессе в миокарде наблюдаются существенные изменения экспрессии PP2Cm, значение этих данных еще предстоит оценить. Можно ожидать, что снижение экспрессии PP2Cm приводит к повышению концентрации свободных АРУЦ (как это показано у PP2Cm нулевых животных), а это может обеспечивать необходимыми субстратами, а также дополнительными сигнальными молекулами процессы, обеспечивающие гипертрофию миоцитов (биосинтез белка) и другие процессы ремоделирования. В таком случае снижение катаболизма АРУЦ следует рассматривать как часть хорошо организованной программы метаболического ремоделирования в стрессированном сердце, позволяющей модулировать энергетическую потребность и регенерацию кардиомиоцитов. Однако, поскольку недостаточность PP2Cm способна индуцировать развитие патологических процессов в миокарде, это должно означать, что снижение катаболизма АРУЦ при патологии не является благоприятной или компенсаторной реакцией, а скорее вносит существенный вклад в негативный прогноз заболевания. Хроническая активация пути mTOR, подавляя кардиопротективное действие аутофагии и сдвигая биоэнергетическую активность в сторону белок-синтезирующих

процессов, воздействует на другие внутримитохондриальные процессы: продукцию свободных радикалов и мембранный потенциал, что может иметь непредсказуемые «побочные эффекты».

АРУЦ являются не только нутриентами, но и потенциальными сигнальными молекулами. Так, АРУЦ, и среди них особенно лейцин, – высокоэффективные активаторы сигнального пути mTOR. В сердце активность mTOR непосредственно оказывает влияние на гипертрофические процессы, происходящие в сердечной мышце, поскольку это ключевой путь регуляции биосинтеза белка [414, 192]. Кроме того, АРУЦ-индуцируемая активация mTOR подавляет аутофагию, которая вносит существенный вклад в развитие патологии сердца [163]. Наконец, активация mTOR также запускает метаболические изменения в скелетной мышце, печени и других тканях, изменяя их чувствительность к инсулину. Кроме того, увеличение соотношения АРУЦ/разветвленные кетокислоты может ингибировать транспорт пирувата и жирных кислот, а также их последующую утилизацию [298]. Следовательно, нельзя исключить, что нарушение катаболизма АРУЦ в стрессированном сердце, как и увеличение локальных концентраций АРУЦ, может приводить к хронической индукции сигнального пути в миокарде с участием mTOR, что будет способствовать развитию сердечной гипертрофии, подавлению кардиопротективного процесса аутофагии и нарушению регуляции биоэнергетических процессов. Парадоксально, но D'Antona et al. [119] показали, что пищевые добавки АРУЦ могут способствовать повышению функциональных возможностей скелетной и сердечной мышц, а также повышать продолжительность жизни мышей.

Помимо mTOR, АРУЦ и/или продукты их катаболизма, такие как разветвленные кетокислоты, могут оказывать непосредственное влияние на митохондриальную функцию и жизнеспособность кардиомиоцитов. У пациентов с пропионовой или метилмалоновой ацидуриями дилатационная кардиомиопатия является частым осложнением, способствующим нарушениям в митохондриальной дыхательной цепи. Трансплатация печени у пациентов с пропионовой ацидурией

предупреждает развитие кардиомиопатии и ликвидирует признаки метаболического стресса, подтверждая гипотезу о том, что в основе сердечной дисфункции может лежать системная индукция катаболизма АРУЦ.

Заключение. АРУЦ являются важными нутриентами с потенциальным сигнальным эффектом. Свободные АРУЦ и их метаболиты, разветвленные кетокислоты, тщательно сохраняются в клетках млекопитающих путем регуляции активности катаболических ферментов. Однако мутации ферментов катаболизирующих АРУЦ способствуют развитию болезни мочи с запахом кленового сиропа, одного из наиболее распространенных нарушений у человека. Хотя большая часть клинических признаков болезни проявляется неврологической симптоматикой, нарушение ключевого регулятора катаболизма АРУЦ нередко вызывает существенные нарушения сердечной функции. Показана связь между нарушением метаболизма АРУЦ и коронарной функцией [345]. Поскольку все молекулярные компоненты катаболического пути АРУЦ известны, современные диагностические подходы позволяют выявить пациентов с неклассическими, промежуточными или индуцибельными формами болезни мочи с запахом кленового сиропа.

Очевидно, что катаболизм АРУЦ важен для функции сердечной мышцы и вносит вклад в развитие сердечной патологии, помимо влияния на поражение сердечно-сосудистой системы. Дополнительное введение АРУЦ тормозит появление воспалительных маркеров у пациентов с хронической сердечной недостаточностью [186, 344], уменьшает на 30% частоту инфекций в гериатрических реабилитационных центрах [35], повышает уровень альбуминов в плазме и содержание общего белка у пациентов на гемодиализе, способствует уменьшению концентрации маркеров воспаления и коррекции анемии [63]. Одновременно, назначение АРУЦ улучшает газообмен в тканях и когнитивные функции у пациентов с обструктивными заболеваниями легких [120]. Подтверждая экспериментальные данные, показано, что парентеральные добавки АРУЦ повышают восстановление когнитивных функций у пациентов с травматическим поражением мозга [33, 34].

В целом изменение метаболизма АРУЦ при развитии метаболической кардиомиопатии сложно переоценить. На основании изучения метаболического профиля крови были показаны корреляционные связи между нарушенным метаболизмом АРУЦ и коронарной патологией [345], между дефектами катаболизма АРУЦ и метаболическим синдромом, инсулинорезистентностью и ожирением. Развитие исследований в этом направлении позволит получить новые данные о связи метаболизма АРУЦ с развитием метаболической кардиомиопатии, других метаболических нарушений, влияющих на функцию сердечной мышцы и сосудистой системы, таких как инсулиннезависимый сахарный диабет, гиперметаболическое ожирение и ряд нарушений со стороны ЦНС.

ГЛАВА 7

ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН, ВАЛИН И ПОЧКИ

Печень и почки играют центральную роль в метаболизме белка. Синтез альбумина, белков острой фазы и свертывающей системы крови происходит в основном в печени, в то время как распад белков и экскреция продуктов катаболизма является результатом тесного взаимодействия печени и почек. Почки участвуют во многих реакциях аминокислотно-белкового обмена, включая гидролиз белков и низкомолекулярных пептидов, а также синтез заменимых аминокислот. Более того, метаболизм аминокислот в почках играет ключевую роль в формировании кислотно-щелочного баланса, в частности, путем активного гидролиза глутамина и экскреции аммонийных солей. Сохранение кислотно-щелочного равновесия имеет фундаментальное значение для обмена аминокислот. Нарушение функции почек может влиять на скорость протеолиза и на метаболизм АРУЦ, в том числе вследствие развития метаболического ацидоза.

Прямое влияние на почечную функцию оказывает количество и состав потребляемого белка. Повышенное количество белка в рационе негативно влияет на почечную гемодинамику, особенно у животных с экспериментальной почечной недостаточностью. Пищевая нагрузка белками повышает нагрузку на почечные клубочки, способствует протеинурии и индуцирует гломерулосклероз и почечную недостаточность. Эффекты пищевого белка на функцию почек реализуются и посредством воздействия различных медиаторов – таких как гормоны (глюкагон, инсулин, инсулиноподобный фактор роста-1, ангиотензин II), цитокины и кинины. Кроме того, нагрузка отдельными аминокислотами стимулирует проксимальный натрий/аминокислотный симпорт и канальцево-клубочковый рефлюкс. С другой стороны, недостаточное содержание белка в пище подавляет гиперфльтрацию, тормозит развитие протеинурии, гломерулярного склероза и повышает выживаемость животных при экспериментальной уремии.

Очевидно, что количество потребляемого белка имеет важное значение для пациентов с хронической нефропатией и

почечной недостаточностью. Ограничение потребления белка, особенно животного, является элементом профилактики прогрессирования нарушения функции почек. При этом необходимо учитывать, что одним из факторов, вызывающих белково-энергетическую недостаточность, особенно у пожилых пациентов, является анорексия. В то же время изменение нутритивного статуса при хронических заболеваниях почек является предиктором прогноза при проведении патогенетического и симптоматического лечения, особенно диализа. Показано, что пациенты, которым выполняется гемодиализ или перитонеальный диализ, испытывают повышенную потребность в белке.

Наиболее часто в качестве показателя, характеризующего адекватность биосинтеза белка, используется концентрация сывороточного альбумина. Изменения аминокислотного профиля в плазме и моче предлагаются в качестве маркеров нутритивного статуса. Однако показано, что несмотря на достаточное поступление белка, у пациентов, получающих гемодиализ, часто развивается аминокислотный дисбаланс [246]. Кроме того, у пациентов с хроническими заболеваниями почек помимо изменений в аминокислотном профиле плазмы обнаруживается аминокислотный дисбаланс в скелетных мышцах. При этом концентрации незаменимых аминокислот низкие, а заменимых, напротив, высокие [118]. Этиология нарушений в аминокислотном профиле плазмы и тканей многофакторная. Основной вклад, несомненно, вносит неадекватность питания; однако некоторые изменения выявляются даже при сбалансированном поступлении нутриентов, указывая на дополнительное воздействие иных факторов, в первую очередь колебаний кислотно-щелочного баланса. Кроме того, вялотекущее воспаление, обычно наблюдаемое у пациентов с хроническими заболеваниями почек, может вызывать дополнительное снижение концентраций свободных аминокислот в плазме [366]. Известно, что системное воспаление также стимулирует распад белка [191]. Поскольку аминокислоты, высвобождаемые из мышечных белков, являются субстратами для синтеза белков острой фазы и белков иммунной системы

[145], это может приводить к общему снижению концентрации аминокислот в плазме [366].

Аминокислотный профиль плазмы при заболеваниях почек, как правило, изменяется – снижается соотношение незаменимые/заменимые аминокислоты, ниже контрольных значений уровень АРУЦ [76]. Уменьшение концентраций АРУЦ связано с развитием белково-энергетической недостаточности, наличием воспалительного процесса и продолжительным нахождением на гемо- или перитонеальном диализе. Концентрации АРУЦ, особенно валина и лейцина, коррелируют с нутритивным статусом [215]. Одновременно показана положительная корреляционная связь между уровнем АРУЦ в плазме и аппетитом.

Потеря свободных аминокислот для биосинтетических процессов является одной из причин возникновения белково-энергетической недостаточности у пациентов на гемодиализе. При каждой процедуре гемодиализа теряется 6-8 г аминокислот. Частично это компенсируется уменьшением синтеза белков в печени и повышенным высвобождением свободных аминокислот из скелетных мышц [65]. В результате у пациентов отмечается положительная корреляция между аминокислотным пулом плазмы, концентрацией АРУЦ, а также уровнем альбумина, особенно выраженная через год пребывания на диализе [50].

Отмечена существенная активация протеолиза у крыс после нефрэктомии, которая приводит к тяжелой почечной недостаточности сопровождающейся изменениями метаболизма отдельных аминокислот также способствующими развитию ацидоза [165]. Активность протеолиза отрицательно коррелирует с уровнем бикарбоната в артериальной крови. При этом высвобождение аминокислот в кровоток, в том числе глутамина и аланина, не отличается от контрольных значений, тогда как высвобождение валина и лейцина снижено. Повышение протеолиза, как правило, коррелирует с развитием метаболического ацидоза [132]. Уровень АРУЦ в плазме считается предиктором нутритивного статуса у пациентов на гемодиализе. Единого мнения в отношении отдельных представителей АРУЦ нет: некоторые исследователи наилучшим

предиктором считают уровень валина [413], тогда как другие указывают на лейцин [324].

Содержание свободных аминокислот в плазме представляет только небольшую фракцию общего содержания свободных аминокислот в организме. Для большинства аминокислот внутриклеточная концентрация в скелетной мышце (наибольший пул свободных аминокислот, непосредственно доступный для синтеза белка) выше, чем в плазме [51]. У пациентов с почечной недостаточностью концентрации аминокислот в плазме не отражают реальные внутриклеточные концентрации в миоцитах [28]. Так, в биоптатах мышц пациентов с уремией выявлена низкая концентрация валина и нормальное или повышенное содержание изолейцина и лейцина [176]. Постабсорбтивный аминокислотный пул формируется в результате высвобождения аминокислот из скелетных мышц, почек и, одновременно, зависит от потребления свободных аминокислот органами брюшной полости, почками и ЦНС. В течение постабсорбтивной фазы нарушения высвобождения аминокислот из органов брюшной полости также вносят вклад в формирование изменений спектра свободных аминокислот в плазме.

Важный вклад в регуляции аминокислотного обмена при патологии почек вносят гормоны. Глюкорегуляторные гормоны и/или почечные аутокоиды влияют на индуцируемую белками или аминокислотами скорость гломерулярной фильтрации. Поскольку инфузия смеси аминокислот, но не одних АРУЦ, повышает скорость гломерулярной фильтрации, были проанализированы сопутствующие изменения потенциальных медиаторов этого эффекта, т.е. глюкорегуляторных гормонов, ренина, вазодилаторных простагландинов и цГМФ. Показано, что введение аминокислот (в том числе только АРУЦ) вызывало существенное увеличение в плазме концентрации инсулина. Уровень глюкагона повышался только при введении аминокислот. Концентрация гормона роста увеличивалась через 2 ч после введения АРУЦ. Во всех случаях достоверно снижалась активность ренина в плазме. Инфузия АРУЦ (но не смеси аминокислот) приводила к прогрессирующему снижению в плазме концентраций глюкозы и калия, увеличению почечной реабсорбции натрия, что могло быть результатом стимуляции

секреции инсулина, которая не уравнивалась одновременным выбросом глюкагона. Авторы указывают на ведущую роль глюкагона как медиатора аминокислота-индуцируемой гломерулярной гиперfiltrации [398].

Метаболический ацидоз является общей характеристикой хронической почечной недостаточности. В таких ситуациях основным является повышение выработки бикарбоната через продукцию аммиака и его экскрецию. Гидролиз глутамина сам по себе не способен обеспечить общую почечную продукцию аммиака. Аммонийогенез из других аминокислот, который обеспечивает до 20% продукции аммиака в нормальных условиях, повышен при ацидозе. Метаболический ацидоз индуцирует и протеолиз путем активации АТФ-убиквитин-зависимого протеолитического пути. Одновременно активируется окисление АРУЦ в клетках почечных канальцев, что обусловлено как повышением количества ферментов, так и активности дегидрогеназы разветвленных кетокислот, вследствие уменьшения активности киназы дегидрогеназы [301]. Коррекция метаболического ацидоза снижает элиминацию АРУЦ у пациентов с поражением почек [245].

Метаболический ацидоз повышает протеолиз у крыс в скелетной мышце даже при наличии инсулина, но этот эффект отсутствует у адреналэктомированных животных. Известно, что одним из дополнительных факторов является резистентность к инсулин-индуцированному ингибированию распада белка и инсулин-индуцируемой стимуляции синтеза белка. Коррекция метаболического ацидоза у пациентов на гемодиализе ведет к существенному увеличению уровня АРУЦ в плазме крови [200]. Так, у пациентов на гемодиализе и с метаболическим ацидозом добавки бикарбоната в течение 6 месяцев приводили к увеличению концентрации АРУЦ в плазме [212]. На последней стадии хронической почечной недостаточности у молодых пациентов, получавших гемодиализ, уровни в плазме лейцина, изолейцина и валина были ниже контрольных значений ($P < 0,01$), а уровень валина коррелировал с pH венозной крови ($P < 0,02$). Пероральное назначение NaHCO_3 приводило к существенному повышению pH венозной крови и концентрации бикарбоната в сыворотке, но не влияло на общее содержание ионизированного

кальция, фосфатов, натрия, калия, креатинина, азота мочевины и концентрацию паратиреоидных гормонов. Назначение пациентам NaCl не изменяло вышеуказанные биохимические параметры. После 2-х недель лечения NaHCO_3 в плазме достоверно увеличивались концентрации валина и лейцина, хотя их значения полностью не нормализовались. Таким образом, ликвидация метаболического ацидоза у пациентов с уремией на гемодиализе уменьшает проявления аминокислотного дисбаланса и способствует повышению концентраций валина и лейцина [245].

Уремия способствует повышению секреции кортикостероидов, которые вносят существенный вклад в повышение протеолиза, распада АРУЦ и, возможно, тормозят биосинтез белка. Помимо изменения уровня кортикостероидов, при уремии ингибированы мембранные транспортеры, которые регулируют поток катионов, влияющих на внутриклеточную pH и одновременно, обеспеченность клеток отдельными аминокислотами. Например, при уремии ингибированы ионные транспортеры, осуществляющие обмен Na^+/H^+ в разных тканях, что повышает чувствительность к метаболическому ацидозу. Метаболический ацидоз активирует сигнальные механизмы с участием Ca^{2+} и лизосомальные протеазы, а также АТФ- и убиквитин-зависимый протеолитический путь [143].

Целый ряд факторов, среди которых лептин, инсулин, ингибиторы синтазы оксида азота, провоспалительные цитокины и собственно дисбаланс аминокислот, являются причиной отсутствия аппетита при уремии [52]. Показана тесная взаимосвязь между аппетитом и добавками АРУЦ. Нормализация низкого содержания АРУЦ в плазме путем использования добавок АРУЦ может уменьшать анорексию, улучшать белково-энергетический статус пациентов на гемодиализе [66, 164].

Использование АРУЦ обогащенных смесей может минимизировать эффект снижения потребления пищи, наблюдаемого при парентральном питании. Содержание АРУЦ в плазме быстро повышалось у пациентов, получавших гранулярную форму АРУЦ, и становилось даже выше, чем у здоровых лиц. Одновременно у пациентов улучшался аппетит, что приводило к увеличению потребления белка и калорий. Вероятно, такое лечение необходимо проводить в течение

длительного времени, поскольку после его прекращения быстро уменьшалось потребление пищи и снижалось содержание АРУЦ в плазме.

Синдром «белково-энергетической недостаточности» является важным фактором смертности пациентов с уремией и требует раннего выявления и лечения. Рекомендуются умеренное ограничение белка (0,5–1,2 г/кг массы в сутки) при возможном дополнительном назначении АРУЦ. Теоретически предпочтение должно отдаваться растительным белкам [29]. Не исключено, что назначение АРУЦ усиливает стимуляцию дыхательного центра свободными аминокислотами, – возможно, вследствие конкуренции с триптофаном на уровне транспорта через гематоэнцефалический барьер. Это может снижать потребление мозгом триптофана, который является предшественником серотонина – центральным ингибитором интенсивности дыхания. Это может иметь отношение и к потреблению пищи, поскольку серотонин является нейротрансмиттером, контролирующим потребление пищи. Лейцин стимулирует синтез белка, а его кетоаналог ингибирует протеолиз вследствие торможения синтеза глюкокортикоидов. В этом отношении нормализация концентрации лейцина в плазме также благоприятно влияет на нутритивный статус.

Инсулин подавляет катаболизм АРУЦ [132], а также мышечный протеолиз. Скелетные мышцы человека чрезвычайно чувствительны к антипротеолитическому эффекту инсулина. Инфузия инсулина до достижения в плазме концентрации 30 мкЕд/мл в максимальной степени подавляет распад белка. Эффекты инсулина на протеолиз (исходя из определения баланса фенилаланина) в мышце полумаксимальны при концентрации инсулина всего 14 мкЕд/мл. Уремия нарушает чувствительность тканей к инсулину, влияя на метаболизм глюкозы и свободных аминокислот. У пациентов с хронической почечной недостаточностью неоднократное проведение перитонеального диализа приводит к постепенному снижению артериальной концентрации ряда свободных аминокислот. Помимо лейцина и валина в плазме крови уменьшаются концентрации серина и тирозина. Существенный вклад в уменьшение циркулирующего и внутриклеточного пулов этих аминокислот при уремии вносит

снижение их продукции почками [128]. Возможно, функциональная недостаточность этих аминокислот ограничивает биосинтез белка, несмотря на повышенную потребность в нем. Уменьшается в плазме артериальной крови и уровень таурина, что указывает на серьезное нарушение осморегуляторных процессов и антиоксидантной защиты. У пациентов на перитонеальном диализе в скелетных мышцах снижалось внутриклеточное содержание таурина, которое коррелировало с уровнем таурина в плазме. Таурин не участвует в синтезе белка, однако истощение запасов таурина может быть причиной нарушений функции сердечно-сосудистой и нервной систем [128, 171].

При тяжелом течении хронической почечной недостаточности у пациентов развивается гипергомоцистеинемия. В отличие от здоровых лиц при поражении почек наблюдается выраженная корреляция содержания гомоцистеина с концентрациями валина, лейцина, изолейцина, метионина и гистидина [171].

Если повышенное потребление белка является фактором, негативно влияющим на функцию почек у пациентов с почечной недостаточностью, то дополнительное введение АРУЦ, напротив, не увеличивает скорость клубочковой фильтрации. Метаболизм белка и АРУЦ исследовали у крыс после нефрэктомии. Через 28 дней после операции падал уровень АРУЦ и значительно увеличивался уровень мочевины и креатинина в плазме. У нефрэктомизированных крыс с ацидозом значительно повышались распад белка, окисление лейцина и его клиренс, снижалась концентрация валина в мышце. Подобные изменения характерны для активации протеолиза, которая имеет место при тяжелой хронической почечной недостаточности, чему, вероятно, способствуют и другие метаболические нарушения, включая ацидоз.

Важным компонентом аминокислотного пула плазмы являются незаменимые аминокислоты. Концентрации незаменимых аминокислот, за исключением метионина, часто снижены при хронической почечной недостаточности, а также в период проведения диализа. Концентрация валина снижена как при гемодиализе, так и при перитонеальном диализе. Снижение

валина в плазме ассоциируется с падением концентрации данной аминокислоты в мышце. Следует заметить, что истощение запасов валина часто имеет место при хронической почечной недостаточности, даже у пациентов без дефицита питания и при умеренной хронической почечной недостаточности. В плазме концентрации лейцина и изолейцина изменяются в зависимости от стадии почечной недостаточности. В противоположность валину, мышечные концентрации лейцина и изолейцина при уремии часто остаются стабильными. Низкий внутри- и внеклеточный пул валина (часто совместно с истощением внеклеточных пулов лейцина и изолейцина) описан как типичный пример содержания АРУЦ при хронической уремии. Истощением запасов валина может объясняться его преимущественный катаболизм при хронической почечной недостаточности.

Почечная недостаточность приводит формированию дефицита и других аминокислот в организме. Так, было показано, что почки играют ключевую роль в продукции тирозина из фенилаланина *in vivo* [272], что позволяет предположить недостаточность тирозина на терминальных стадиях поражения почек [62]. Почки после введения смеси аминокислот активно захватывают АРУЦ. Поскольку в паренхиме почек высока активность аминотрансферазы АРУЦ и одновременно низкая активность дегидрогеназы разветвленных кетокислот, полагают, что АРУЦ в основном участвуют в процессе трансаминирования и/или аммионогенеза. В течение постабсорбтивной фазы метаболическая ситуация кровь–почки характеризуется высвобождением лейцина, что составляет до 1/3 общей продукции лейцина, чего не наблюдается в отношении изолейцина и валина. Таким образом, метаболизм АРУЦ в почках характеризуется захватом АРУЦ в абсорбтивной фазе и последующим высвобождением лейцина в постабсорбтивный период.

Восстановление пула АРУЦ показано у пациентов, получавших дополнительно валин во время гемодиализа или перитонеального диализа, а также после коррекции метаболического ацидоза. Трансплантация почек также помогает нормализовать обеспеченность АРУЦ. При хронической почечной недостаточности заметно изменяется потребление

клетками глутамина, подавляется обмен серина, валина и цитруллина.

В физиологических условиях богатая белками пища способствует повышенному высвобождению аминокислот тканями печени и кишечника. Высвобождаются в основном АРУЦ и пролин, но одновременно и такие метаболически важные аминокислоты, как аргинин, лизин, треонин, тирозин и фенилаланин. Следовательно, белковая пища способствует обогащению артериальной крови незаменимыми аминокислотами, в особенности АРУЦ. У пациентов с хронической почечной недостаточностью, получающими повышенное количество белка, увеличивается общее высвобождение свободных аминокислот, особенно заменимых. Подобные сдвиги обмена свободных аминокислот в печени индуцируют двукратное увеличение в артериальной крови заменимых аминокислот, без существенного изменения в артериальной крови содержания АРУЦ, что влияет как на синтез мочевины, так и на окислительный метаболизм.

Таким образом, метаболизм аминокислот нарушается при хронической почечной недостаточности как с количественной, так и с качественной точек зрения. Снижение утилизации свободных аминокислот печенью может быть ответственно за нарушение биосинтеза белка в этом органе и уреагenez. В свою очередь ацидоз влияет на нарушение метаболизма аминокислот в абсорбтивной фазе. У крыс в эксперименте ацидоз индуцирует изменения профиля свободных аминокислот плазмы, подобно наблюдаемым при хронической почечной недостаточности. У пациентов с хронической почечной недостаточностью вариации в артериальных концентрациях свободных аминокислот и потреблении АРУЦ мышцами отрицательно коррелируют с содержанием бикарбоната в артериальной крови.

Концентрации АРУЦ в мышце – результат перманентного обмена, характеризующегося потреблением аминокислот во время абсорбтивной фазы и высвобождением аминокислот во время постабсорбтивного периода. У здоровых лиц, потребляющих смешанную пищу, валин, лейцин и изолейцин составляют >50% аминокислот, потребляемых мышцей. После введения смеси аминокислот, симулирующей пищевые белки,

общее потребление аминокислот было выше у пациентов с хронической почечной недостаточностью, чем у контрольных лиц (+71%), вследствие повышенного захвата скелетными мышцами заменимых аминокислот (+156%). При этом потребление АРУЦ в абсолютных значениях не отличалось от контрольной группы, но составляло только 30% от общей экстракции аминокислот, тогда как этот показатель составлял 46% в контрольной группе. Следовательно, в мышечную ткань поступает повышенное, но не сбалансированное количество свободных аминокислот, избыток которых метаболизируется с образованием соответствующих кетокислот. Известно, что при хронической почечной недостаточности, и особенно у пациентов на гемодиализе регистрируются низкие концентрации в плазме кетоизокапроата, кетоизовалерата и кетометилвалерата, соответствующих кетоаналогов лейцина, валина и изолейцина. Уровни кетоизокапроата и кетометилвалерата в плазме коррелируют с потреблением белка, скоростью гломерулярной фильтрации и содержанием бикарбоната в плазме.

В постабсорбтивной фазе регистрируются низкие концентрации валина в скелетной мышце, что одновременно со сниженным его высвобождением приводит к уменьшению концентрации данной аминокислоты в плазме. Более того, обратная корреляционная связь, существующая между внутриклеточным содержанием валина и уровнем бикарбоната в артериальной крови, указывает на вклад ацидоза в метаболизм этих аминокислот. Исследование метаболизма разветвленных кетокислот в скелетной мышце показало, что при хронической почечной недостаточности высвобождение кетоизокапроата и кетометилвалерата снижается, тогда как кетоизовалерата достоверно не изменяется.

У пациентов с хронической почечной недостаточностью в стабильном состоянии повышен как биосинтез белка, так и его распад. В случае коррекции ацидоза, например, с помощью гемодиализа, протеолиз снижается, становится возможной адаптация к более низкому поступлению белка. В экспериментах на крысах с ацидозом показана активация в скелетной мышце компонентов E1 и E2 дегидрогеназы разветвленных кетокислот,

но этого не отмечено в отношении печеночной дегидрогеназы разветвленных кетокислот.

Кортизол, секреция которого стимулируется при ацидозе, необходим для индукции окисления АРУЦ и АТР-убиквитин-зависимого протеолиза. Одновременно при экспериментальном ацидозе протеолиз и распад АРУЦ сопровождаются повышением синтеза и высвобождения глутамина из мышц. Следовательно, метаболический ацидоз повышает катаболизм белка, окисление АРУЦ и высвобождает глутамин из скелетных мышц. В результате переноса глутамина в почки возрастает экскреция аммонийных солей и генерация бикарбоната. Распад АРУЦ в скелетных мышцах функционирует как элемент межорганного регуляторного механизма, направленного на нормализацию кислотно-щелочного равновесия [266]. При длительном ацидозе, вызванном хронической почечной недостаточностью, подобный адаптивный механизм имеет для организма негативные последствия вследствие прогрессирующей потери мышечной массы [266].

Проведение гемодиализа может влиять на метаболизм белка и АРУЦ в скелетных мышцах. Сам по себе гемодиализ способствует катаболизму, поскольку уменьшает интенсивность биосинтеза белка и вызывает потерю аминокислот в диализат [231]. Более того, гемодиализ повышает уровень мРНК глутаминсинтазы и компонента E2 дегидрогеназы разветвленных кетокислот в мышце [325]. Внутриклеточная концентрация аланина и глутамина во время гемодиализа сохраняется, подтверждая то, что высвобождение этих аминокислот из мышечной ткани — результат повышенного катаболизма белка. Авторы приходят к заключению, что хотя распад мышечного белка увеличивался, в целом в организме катаболизм белка уменьшался, что указывает на централизацию утилизации аминокислот, высвобождающихся из мышечной ткани [325].

Пациенты с уремией более чувствительны, чем здоровые лица, к анаболическому действию инсулина. Если дополнительное введение только инсулина снижает протеолиз и окисление лейцина, то назначение инсулина совместно с аминокислотами повышает биосинтез белка в скелетных мышцах [232].

При почечной недостаточности нарушения метаболизма АРУЦ влияют на функциональную активность клеток, особенно нейронов мозга. Изменения концентраций АРУЦ в плазме влияют на транспорт отдельных аминокислот на уровне гематоэнцефалического барьера и синтез нейротрансмиттеров. У здоровых лиц после приема пищи глутамин составляет до 25% потребляемых мозгом аминокислот, валин – 19%, лейцин совместно с изолейцином – 16% [125]. При хронической почечной недостаточности уровень потребления клетками мозга валина, изолейцина и глутамина не изменяется [125]. Изменения транспорта аминокислот через гематоэнцефалический барьер приводят к модуляции аминокислотного спектра спинномозговой жидкости, включая снижение концентраций лейцина, валина и тирозина [133]. Синтез липидов и белков клетками мозга, который зависит от доступности АРУЦ, также как и образование нейротрансмиттеров из глутамина и тирозина, может быть нарушен. Очевидно, что изменения метаболизма АРУЦ в мозге могут вносить вклад в развитие уремической энцефалопатии [376]. Показано, что добавки АРУЦ улучшают функциональную активность клеток мозга. В частности, у пациентов нормализуется, нарушенный в результате гемодиализа, сон.

В клинике изучали влияние низкобелкового рациона, обогащенного кетокислотами и аминокислотами на функцию почек и экскрецию с мочой АРУЦ у пациентов с хронической почечной недостаточностью. Наблюдение в течение месяца за 28 пациентами с хронической почечной недостаточностью (16 мужчин, 12 женщин, возраст 28-66 лет, клиренс креатинина $18,6 \pm 10,2$ мл/мин) находившихся на низкобелковом рационе (0,6 г белка/кг массы/сутки и калорийность 140 кДж/кг массы/сутки) и в последующем переведенных на низкобелковый рацион, обогащенный кето- и аминокислотами в дозе 0,1 г/кг массы/сутки в течение 3 месяцев позволило получить интересные результаты. Было обнаружено достоверное увеличение в сыворотке уровней лейцина ($p < 0,02$), изолейцина ($p < 0,03$) и валина ($p < 0,02$), в то время как их почечная экскреция снижалась ($p < 0,02$, $p < 0,01$, соответственно). Добавки кето- и аминокислот не влияли на почечную функцию и клиренс инулина, п-аминогипуровой кислоты. Клиренс эндогенного креатинина и мочевины не

изменялся. Наблюдалась достоверная корреляция между экскрецией натрия и лейцина ($p < 0,05$) и гиперболические взаимоотношения между клиренсом инулина и экскрецией АРУЦ ($p < 0,01$). Отмечено значительное снижение протеинурии, концентрации мочевины в плазме и увеличение уровня альбумина ($p < 0,03$). Авторы исследования делают заключение, что у пациентов с хронической почечной недостаточностью на низкобелковом рационе добавки кето- и аминокислот не влияют на почечную гемодинамику, но модулируют механизмы транспорта в канальцах почек [375].

При хронической почечной недостаточности стратегия дополнительного использования нутриентов обычно заключается в следующем [377]: 1) минимизировать уремию и избежать мальнутриции; 2) затормозить прогрессирование поражения почек. Смеси, содержащие АРУЦ и разветвленные кетокислоты, обычно назначают на фоне диеты с низким содержанием белка. Более того, они назначаются в комбинации с другими незаменимыми аминокислотами и/или их кетоаналогами.

У пациентов с недостаточностью питания и находящимися на диализе добавки незаменимых аминокислот и/или кетокислот, включающих АРУЦ и их кетоаналоги, используются достаточно давно. Помимо недостаточности питания, показанием для использования этих смесей является снижение в плазме концентраций незаменимых аминокислот. У пожилых пациентов незаменимые аминокислоты более эффективно стимулируют биосинтез белка, чем даже полная композиция аминокислот [395].

Терапевтическая эффективность разветвленных кетокислот основана на нескольких соображениях [400]: 1) вследствие своей способности фиксировать аминогруппу и генерировать АРУЦ разветвленные кетокислоты ведут себя как безаминные предшественники АРУЦ; 2) разветвленные кетокислоты, в особенности кетоизокапроновая кислота, снижают распад мышечного белка; 3) разветвленные кетокислоты замедляют развитие почечной недостаточности, уменьшая тяжесть вторичного гиперпаратиреоза. Добавки разветвленных кетокислот на фоне низкобелкового рациона заметно улучшали

биосинтез микросомальных белков и глутатиона в печени пациентов с уремией [114].

Смеси незаменимых аминокислот у пациентов с хронической почечной недостаточностью обычно включают валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, треонин, триптофан, лизин, метионин и гистидин. При хронической почечной недостаточности тирозин считается незаменимой аминокислотой. Смесь кетокислот, содержащая разветвленные кетокислоты, обычно содержит также кетоаналог фенилаланина, аналог гидроксиметионина и другие аминокислоты, считающиеся незаменимыми для пациентов с хронической почечной недостаточностью.

Показано, что у пациентов с прогрессирующей хронической почечной недостаточностью рацион с резким ограничением белка и обогащенный кетоаналогами незаменимых аминокислот в течение 3 месяцев вызывал снижение уровня глюкозы в плазме с $5,0 \pm 0,1$ до $4,7 \pm 0,1$ ммоль/л и инсулина – с $82,4 \pm 20,7$ до $48,8 \pm 8,0$ пмоль/л. Эндогенная продукция глюкозы уменьшалась на 66%. Эти данные указывают на улучшение чувствительности к инсулину [335].

Заключение. При заболеваниях почек нарушение метаболизма АРУЦ и разветвленных кетокислот является следствием как снижения вклада почек в метаболизм свободных аминокислот в целом организме, так и влияния почечной недостаточности и ацидоза на обмен азота. Активация окислительного метаболизма АРУЦ и разветвленных кетокислот приводит к истощению их запасов, что проявляется низкими концентрациями в плазме АРУЦ, а также валина в мышечных клетках. При хронической почечной недостаточности основной стратегией лечебных мероприятий является минимизация уремии, предупреждение мальнутриции и торможение прогрессирования заболевания почек. Добавки АРУЦ и разветвленных кетокислот предлагаются с целью снижения потребления белка и сохранения нутритивного статуса. С этой целью АРУЦ или кетокислоты назначают отдельно и в комбинации с другими незаменимыми аминокислотами или их кетоаналогами. Эффект дополнительного введения АРУЦ или кетокислот наиболее оптимален при приеме низкобелковой

диеты. Показано, что ограничение белка совместно с кетокислотами и/или незаменимыми аминокислотами улучшает чувствительность к инсулину, препятствует проявлению гиперпаратиреозидизма и положительно влияет на нутритивный статус пациентов [75].

Репозиторий ГРГМУ

ГЛАВА 8

ЛЕЙЦИН: ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НА БИОСИНТЕЗ БЕЛКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Изменения метаболизма в скелетных мышцах оказывают глубокое воздействие на метаболизм организма в целом. Скелетные мышцы потребляют ~75%–80% глюкозы и являются основным органом, определяющим скорость метаболизма. Потеря мышечной массы снижает общее потребление глюкозы в организме, что способствует развитию гипергликемии, но не влияет на степень инсулинорезистентности.

Митохондрии миоцитов являются органеллами, обеспечивающими генерацию энергии при окислении субстратов и, следовательно, вносящими важный вклад в регуляцию метаболизма. Уменьшение количества и качества митохондрий в скелетных мышцах является одной из причин развития инсулинорезистентности у пожилых лиц [315] и развития сопутствующих старению заболеваний, таких как сахарный диабет 2 типа [271]. Митохондрии также играют важную роль в продукции свободных радикалов при окислительном стрессе и регуляции апоптотического каскада, процессах, которые усиливаются при старении организма.

Метаболизм аминокислот в скелетной мышце в основном лимитируют 6 аминокислот (глутамат, аспартат, аспарагин, лейцин, изолейцин и валин). Среди данных аминокислот наиболее важны эффекты лейцина. Лейцин выполняет множество функций в метаболизме. Многочисленным функциям лейцина благоприятствует, по крайней мере частично, отсутствие аминотрансферазы АРУЦ в печени, что приводит к повышенному поступлению АРУЦ из кишечника в общую циркуляцию. Это позволяет лейцину, изолейцину и валину достигать скелетных мышц пропорционально их содержанию в рационе. Существенное увеличение в плазме венозной крови свободных аминокислот наблюдается только для тех аминокислот, уровень которых в белках рациона составляет >20%.

Лейцин участвует в ряде метаболических процессов, включая субстратную функцию в биосинтезе белка.

Одновременно с этим лейцин функционирует как (1) основной регулятор инициации трансляции синтеза белка, (2) модулятор инсулинового каскада на уровне фосфоинозитол 3-киназы (PI3-киназа), (3) является донором азота для продукции в мышцах транспортных форм азота – аланина и глутамина. При этом степень влияния лейцина на данные процессы зависит от его внутриклеточной концентрации. В свою очередь внутриклеточная концентрация лейцина отражает баланс между скоростью появления лейцина в плазме в результате эндогенного распада белка и гидролиза пищевых белков, с одной стороны, и его использованием для биосинтеза белка и собственного окисления, – с другой. Среди других аспектов – влияние внутриклеточной концентрации лейцина на: (1) активность дегидрогеназы разветвленных кетокислот – скорость-лимитирующую стадию деградации АРУЦ; (2) пируватдегидрогеназы – ключевого фермента гликолиза, контролирующего поступление пирувата в ЦТК; (3) регуляцию метаболических потоков воздействием на степень фосфорилирования инсулинового рецептора; (4) регуляцию высвобождения инсулина β -клетками. Эти разнообразные метаболические эффекты позволяют лейцину непосредственно воздействовать практически на все метаболические процессы, происходящие в клетке.

Введение аминокислот повышает в плазме концентрации свободных аминокислот подобно тому, как это происходит после приема мясной пищи. При этом глюкоза крови не изменяется, но уровень инсулина обычно увеличивается на 7–10 мкЕд/мл. На основании того, что лейцин стимулирует биосинтез белка и ингибирует его распад, добавки лейцина могут быть эффективным способом ограничения потери белка при патологических состояниях и улучшения белкового баланса при голодании. Ранее было принято считать, что аминокислоты не оказывают влияния на биосинтез белка, поскольку K_m аминоацил тРНК-синтетаз достаточно низкая, ферменты находятся в насыщенном состоянии и, кроме того, биосинтез белка является полностью инсулин-зависимым процессом. Позднее было показано, что инфузия лейцина или кетокислот – аналогов АРУЦ – голодающим пациентам улучшает азотистый баланс, а введение

комбинации лейцин+глюкоза голодающим крысам стимулирует образование полирибосом, что однозначно указывает на повышение скорости биосинтеза белка в мышце.

Показано, что имеется латентный период (около 30 мин.) до значимого повышения включения аминокислот в биосинтез белка, а затем происходит быстрая, и даже очень быстрая, его стимуляция. Через 2 ч, несмотря на продолжающееся введение аминокислот, биосинтез белка в скелетных мышцах возвращается к базальному уровню. Поскольку максимальное количество белка, которое может образоваться в мышце, определяется тканевым соотношением РНК/белок, а также транспортом аминокислот из внеклеточного пространства, наличие подобного лаг-периода позволяет предположить, что: 1) необходимо время для настройки сигнального механизма, который воспринимает и передает информацию о доступности аминокислот; 2) длительное введение аминокислот бесполезно для поддержания анаболического ответа – аминокислоты будут просто катаболизироваться в мочевины и кетокислоты.

Инфузия полной смеси аминокислот способствует синтезу белка в мышцах и внутренних органах, и одновременно ингибирует распад белка (в основном в скелетных мышцах). Избыточное потребление АРУЦ увеличивает их уровень в плазме, но они быстро окисляются, продуцируя энергоемкие субстраты и аммиак. Ключевые гормоны, которые регулируют уровень глюкозы в крови, инсулин и глюкагон, оказывают выраженное влияние на концентрации АРУЦ. Инфузия инсулина снижает уровни АРУЦ. Анаболический эффект инсулина проявляется главным образом в скелетных мышцах, где он ингибирует распад белка, влияет на индуцированный аминокислотами биосинтез белка, снижает трансаминирование лейцина. Совместное введение инсулина и аминокислоты в еще большей степени подавляет распад белка и стимулирует его биосинтез. Показано, что максимальный эффект совместного введения инсулина и АРУЦ проявляется в скелетной мышце [303].

При физической нагрузке повышение окисления аминокислот сопровождается подавлением общего синтеза белка в организме и стимуляцией протеолиза. Катаболизм лейцина

повышается пропорционально потребности в энергии, но общий вклад АРУЦ в обеспечение энергией не является существенным для организма и недостаточен для резкого увеличения потребности в пищевых белках. Исследуя влияние аминокислот на регуляцию синтеза белка в скелетных мышцах, показано, что повышение доступности свободных аминокислот стимулирует биосинтез белка в той же степени, что и при приеме полноценных белков с пищей. Лейцин сам по себе (и в некоторой степени другие незаменимые, *но не заменимые аминокислоты*) может стимулировать биосинтез белка в течение короткого периода, указывая на то, что в этой ситуации он действует и как сигнальная молекула, и как субстрат. Стимуляция биосинтеза, осуществляемая незаменимыми аминокислотами, прекращается примерно через 2 часа. Введение смеси аминокислот после кратковременного голодания повышает биосинтез как миофибриллярных, так и саркоплазматических белков в скелетной мышце.

Повышение доступности незаменимых аминокислот характеризуется дозозависимым ответом, но только не у пожилых лиц, у которых отсутствие чувствительности и ответной реакции на введение аминокислот связывают со снижением общей количества РНК и мРНК, сигнальных молекул и сигнальных белков. Увеличение скорости биосинтеза белка при назначении незаменимых аминокислот сопровождается повышением активности сигнального пути mTOR/киназа p70 рибосомальной субъединицы S6 и белка, связывающего эукариотический фактор инициации, а также требует одновременного увеличения уровня инсулина в плазме свыше 10 мкЕд/мл [401]. При уровне инсулина в плазме <5 мкЕд/мл аминокислоты, вероятно, стимулируют биосинтез белка без воздействия на сигнальный путь mTOR. Более того, повышенная доступность инсулина (до постабсорбционных значений) повышает сигнальную активность регуляторного комплекса mTOR, но не оказывает дополнительного эффекта на биосинтез белка в скелетной мышце [330].

В скелетных мышцах наряду с гормонами аминокислоты являются ключевыми регуляторами метаболизма белка. Так, лейцин оказывал ингибирующий эффект на протеолиз в

скелетных мышцах цыпленка (измеряли по появлению метилгистидина) путем снижения количества убиквитиновой и протеосомной субъединиц мРНК [287]. После внутривенной инфузии лейцина в течение 2,5 ч в дозе 300 мкмоль/мин, т.е. ~260 мкмоль/кг/ч (что вдвое превышает эндогенный оборот лейцина), в плазме падали концентрации валина и изолейцина, а также фенилаланина, тирозина и метионина. При этом половина введенного лейцина экстрагировалась скелетными мышцами, четвертая часть – кишечником и печенью, 10% – тканью мозга. Вероятно, оставшиеся 10% экстрагируются другими тканями (например, почками). Считают, что падение концентраций валина и изолейцина – результат их потребления органами брюшной полости, но этим нельзя объяснить падение фенилаланина и тирозина. Можно предположить, что повышение уровня лейцина после его инфузии может изменять L-систему транспорта аминокислот, ограничивает свободное перемещение фенилаланина и тирозина за пределы клетки, что ведет к уменьшению их концентрации в крови.

Результаты, полученные после инфузии смеси АРУЦ в соотношениях, аналогичных плазме крови (300 мкмоль/мин лейцина, 600 мкмоль/мин валина, 150 мкмоль/мин изолейцина), в течение 2,5 ч показали, что только лейцин вызывал уменьшение в плазме концентраций фенилаланина, тирозина, метионина. Валин и изолейцин оказывали незначительный эффект. Считают, что снижение концентраций аминокислот специфично именно для лейцина, но не для всех АРУЦ, и, скорее всего, связано с модуляцией лейцином L-системы транспорта аминокислот.

Поскольку при голодании распад белка превышает его синтез, аминокислоты в значительном количестве окисляются. Показано, что ~40% введенного лейцина захватывается мышечной тканью и при этом около половины накапливается в виде свободного внутриклеточного лейцина. Обеднение пула свободных аминокислот после введения инсулина связано главным образом со снижением только скорости распада белка. Поэтому для достижения оптимального стимулирующего эффекта вместе с инсулином должны вводиться аминокислоты. Между тем, хотя введение аминокислот должно стимулировать биосинтез белка, увеличение в аминокислотной смеси количества

вводимых АРУЦ часто не оказывает дополнительного эффекта [253], что может быть обусловлено особенностями конкретного физиологического состояния.

Метаболический синдром (Синдром X) характеризуется нарушением толерантности к глюкозе, компенсаторной гиперинсулинемией, а также ожирением. Повышение концентрации в плазме свободных жирных кислот снижает скорость биосинтеза белка в скелетных мышцах. Липид-индуцированное снижение биосинтеза белка обычно не сопряжено со уменьшением доступности аминокислот, поскольку концентрации всех аминокислот, за исключением аланина, сохраняются на физиологическом уровне. Между тем, Ferrannini et al. показали [109], что после инфузии липидов наблюдается генерализованная гипоаминоацидемия. Свободные жирные кислоты плазмы быстро повышаются после инфузии Интралипида с гепарином, вызывая одновременно общую гипоаминоацидемию. Эта метаболическая реакция организма указывает, что повышение в плазме свободных жирных кислот повышает биосинтез белка и/или снижает протеолиз. Инфузия липидов оказывает гипоаминоацидемический эффект и при голодании, а последующая эугликемическая и гипергликемическая гиперинсулинемия не влияет на концентрацию аминокислот [109]. Доказано, что длинноцепочечные жирные кислоты *in vitro* и *in vivo* оказывают белок-сберегающий эффект [70]. Они ингибируют эндогенный распад белка и могут подавлять окисление лейцина в организме, но при этом не влияют на биосинтез белка. В то же время среднецепочечные жирные кислоты повышают окисление лейцина [197], но не других аминокислот [49]. Повышение в плазме свободных жирных кислот способствует формированию резистентности к инсулину в скелетных мышцах, которая характеризуется нарушением способности инсулина стимулировать потребление глюкозы и синтез гликогена [222]. Частично это следствие накопления липидов, в результате чего нарушается фосфорилирование инсулинового рецептора (IRS-1) [222]. Одновременно повышенный уровень свободных жирных кислот препятствует способности ростовых факторов стимулировать биосинтез белка в скелетных мышцах.

Многие характеристики метаболизма АРУЦ у животных-опухоленосителей подобны таковым при других состояниях, для которых характерна потеря массы тела и атрофия мышц. Подобные метаболические ситуации обычно характеризуются изменением доступности АРУЦ (низкое потребление, повышенная скорость окисления, глюконеогенез), которые характеризуются активацией протеолиза, подавлением белкового синтеза в скелетных мышцах и неизбежно приводят к уменьшению массы тела.

Отрицательный азотистый баланс и слабость скелетных мышц при кахексии указывает на то, что в этой ситуации катаболизм белка в целом преобладает над его биосинтезом. Уникальные метаболические характеристики опухолевых клеток предполагают использование ими аминокислот для наиболее важных процессов – пролиферации и инвазивной активности. Следовательно, сдвиг аминокислотного баланса в этой ситуации должен предполагать изменения количества и качества утилизируемых аминокислот. Как и неопухолевые ткани, опухоль должна использовать АРУЦ в первую очередь для биосинтеза белков, а их избыток окислять частично или полностью. Например, клетки карциносаркомы Walker 256 или гепатомы Morris 5123 экспрессируют аминотрансферазу разветвленных аминокислот и дегидрогеназный комплекс разветвленных кетокислот [44]. Однако в обоих типах опухолей активность аминотрансферазы в расчете на 1 г белка ниже, чем в скелетной мышце крыс-опухоленосителей. При этом удельная активность дегидрогеназного комплекса в клетках опухоли выше, чем в скелетной мышце крыс-опухоленосителей при гепатоме Morris, но меньше при Walker 256 [44]. Это указывает на наличие определенной специфичности, т.е. некоторые типы опухоли могут катаболизировать АРУЦ с более высокой скоростью.

Преимущественное потребление определенных аминокислот опухолевой тканью хорошо показано с помощью электронной эмиссионной томографии. С этой целью позитрон-эммитентные изотопы ^{18}F и ^{11}C были инкорпорированы в метионин, тирозин, фенилаланин, триптофан, валин и лейцин. Показано, что потребление валина опухолевыми клетками мозга крысы было в 22 раза больше, чем в контралатеральной коре

мозга, тогда как потребление ^{18}F -дезоксиглюкозы было только в 1,5 раза выше. Очевидно, что опухоль потребляет аминокислот гораздо больше, чем глюкозы. При этом наиболее активно захватывается клетками опухоли лейцин.

Активация распада мышечного белка через АТФ-убиквитиновый путь индуцируется медиаторами как организма-хозяина, так и опухоли [43]. Одновременно биосинтез белка в скелетных мышцах не изменяется или уменьшается, что приводит к общей потере белка [43]. Поскольку миофибриллы содержат около 18% АРУЦ, ускорение распада белка сопровождается мобилизацией этих аминокислот, хотя они имеют также тенденцию катаболизироваться в пределах мышечной ткани.

Окисление лейцина и активность аминотрансферазы АРУЦ и дегидрогеназы разветвленных кетокислот изучали на модели опухоли Walker 256. Окисление лейцина у крыс-опухоленосителей Walker 256, у которых вес опухоли составлял от 3 до 20% массы тела, было повышено в 2–3 раза [357]. При массе опухоли 4% (от массы тела) окисление лейцина в изолированной мышце крыс-опухоленосителей Walker 256 повышалось в 1,5 раза, тогда как включение лейцина в белки мышечной ткани не изменялось [357]. При более высокой массе опухоли (19%) наблюдали увеличение высвобождения тирозина в 1,3 раза, а окисления лейцина – в 2,8 раза. Повышалась активность ферментов, метаболизирующих аминокислоты и разветвленные кетокислоты в клетках опухоли Walker 256 [357]. Поскольку активность данных ферментов в печени не изменялась, это указывает на то, что окисление лейцина в мышечной ткани играет основную роль в повышении скорости окисления лейцина в организме.

Активация катаболизма мышечного белка и стимуляция дегидрогеназного комплекса разветвленных кетокислот является частью незаменимой физиологической функции, обеспечивающей глюконеогенез при голодании. Окисление АРУЦ в мышцах поставляет азот для синтеза высвобождающихся глюконеогенных аминокислот, особенно глутамина и аланина. У онкологических пациентов при наличии кахексии повышена скорость глюконеогенеза, которая не подавляется введением

глюкозы. Утилизация глюкозы в опухолевых клетках в качестве энергетических субстратов и изменения в метаболизме всего организма, возможно, являются сигналом для повышенного катаболизма АРУЦ в клетках опухоли. В условиях дефицита энергии, в частности при кахексии, это может быть благоприятным фоном для активации энергетического обмена в скелетной мышце.

Объяснение высокой эффективности применения АРУЦ при различных патологических состояниях, вероятно, состоит в том, что лейцин способствует биосинтезу белка, стимулируя этап трансляции, способствуя высвобождению инсулина β -клетками и одновременно ингибируя аутофагальный распад белка. Следовательно, содержание лейцина в компартментах организма чрезвычайно важно для сохранения общего уровня биосинтеза белка в организме.

Потеря аппетита приводит к снижению потребления пищи и поступления АРУЦ. Увеличение транспорта ароматических аминокислот в мозг и синтеза нейротрансмиттера серотонина также способствует развитию анорексии. Показано, что добавки АРУЦ онкологическим пациентам в течение 7 дней приводят к повышению в плазме концентрации больших нейтральных аминокислот и снижают их соотношение с триптофаном. В итоге это должно приводить к снижению синтеза серотонина [74].

Повышенное потребление и утилизация аминокислот клетками опухоли предполагает, что противоопухолевая терапия должна быть основана на специфическом ингибировании потребления аминокислот. Эта концепция протестирована на животных в 1990-х гг. при пищевом ограничении поступления некоторых специфических аминокислот (аргинин и метионин) или антиметаболитов, вмешивающихся в метаболизм глутамина [140, 305]. Гепатома АН-109А экспериментального асцита чувствительна к пищевой недостаточности АРУЦ, особенно валина, дефицит которого вызывает заметное торможение роста опухоли (-70%) [305]. Однако лимитированное потребление аминокислот приводит к снижению биосинтеза белка в организме, отрицательному азотистому балансу и формированию стеатоза печени вследствие нарушения синтеза

аполипопротеинов с последующим торможением экспорта липопротеинов из печени.

Исследования возможностей использования добавок АРУЦ при злокачественных опухолях в основном сосредоточены на эффектах лейцина и его производного β-метил-β-гидроксипутирата – основных регуляторов метаболизма в скелетных мышцах [44]. Показано, что у пациентов с внутриабдоминальными аденосаркомами при введении аминокислот, содержащих до 50% АРУЦ (по сравнению с получающими стандартные растворы, содержащие в среднем 19% АРУЦ), активируется метаболизм лейцина, а также повышается скорость биосинтеза белка, в том числе альбумина в печени [305].

В отличие от других стрессовых ситуаций, где АРУЦ используются для улучшения белкового баланса, при онкогенезе поступление нутриентов, включая аминокислоты, теоретически должно способствовать опухолевому росту, увеличивая биосинтез белка [161]. Это, возможно, в меньшей степени относится к АРУЦ, а больше к другим аминокислотам, участвующим в пролиферации клеток, таким как глутамин и метионин. Между тем показано, что добавление лейцина не повышало рост опухоли [138]. Аналогичная ситуация отмечена у беременных животных-опухоленосителей [393, 394]. Таким образом, стимулирующие эффекты лейцина, вероятно, в большей степени реализуются в здоровых клетках, особенно в клетках скелетных мышц.

Инкубация изолированной мышцы здоровых крыс в среде, содержащей лейцин, снижает скорость протеолиза, тогда как скелетные мышцы крыс с асцитной гепатомой Yoshida не отвечали на добавление в среду лейцина. Внесение в инкубационную среду лейцина снижало экспрессию компонентов АТФ-убиквитинового протеолитического пути, менее эффективно у опухоленосителей, по сравнению со здоровыми крысами. Ингибиторный эффект лейцина на протеолиз в скелетной мышце при катаболических состояниях может быть связан с индукцией распада белка другими клеточными медиаторами, образующимися как в клетках хозяина, так и опухоли. Нельзя исключить существование метаболита лейцина,

который мог бы непосредственно ингибировать протеолиз в мышечных тканях, и очевидно, что уровень этого гипотетического соединения должен существенно отличаться у опухоленосителей.

Каждая специфическая раковая клетка и каждый орган, их метаболические функции могут иметь свои специфические особенности метаболического ответа на дополнительное введение аминокислоты. При этом ответ клеток опухоли и клеток организма хозяина может быть различным (например, опухоль может быть более чувствительна к истощению аминокислот, чем ткани хозяина, или клетки хозяина захватывают больше аминокислот, поступающих с рационом, чем опухолевые ткани). Следовательно, возможно, существует идеальный уровень поступления аминокислот, который максимально соответствует потребностям клеток хозяина, но недостаточен для развития опухоли. Одним из таких ключевых регуляторов может быть киназа mTOR – ключевой модулятор белкового синтеза, аутофагии и метаболизма. Нарушение ее регуляции наблюдается при развитии множества заболеваний человека, включая нейродегенеративные и опухолевые заболевания, а также сопровождается старением.

mTOR [англ. mammalian target of rapamycin (mTOR); FK506 binding protein 12-rapamycin associated protein 1 (FRAP1)] — серин/треониновая протеинкиназа регулирует поддержание клеточного гомеостаза, координируя процессы транскрипции, трансляции, метаболизма и аутофагии с наличием аминокислот, ростовых факторов, АТФ и кислорода. Киназа mTOR входит в состав двух комплексов: mTORC1 и mTORC2, различающихся по составу и регулирующих разные процессы клеточной жизнедеятельности. Неконтролируемая активация киназы mTOR наблюдается в клетках большинства опухолей, а также при диабете, нейродегенеративных и других заболеваниях.

Высококонсервативная серин/треониновая протеинкиназа mTOR принадлежит к семейству фосфатидилинозитолкиназ (PIKK – phosphatidylinositol-3-kinase-related kinases) и является ключевым ферментом mTOR-сигнального пути, регулирующего накопление клеточной массы у многих эукариот. Открытие киназы mTOR произошло в результате изучения эффектов

противогрибкового соединения – рапамицина, являющегося иммунодепрессантом и цитостатическим агентом [9].

Основная функция киназного комплекса mTORC1 – фосфорилирование белков (в ответ на сигналы внешней среды), которое вызывает целый ряд эффектов, регулирующих процессы белкового синтеза, транскрипции, клеточного деления, апоптоза и метаболизма. При наличии в среде ростовых факторов и питательных веществ mTORC1 регулирует процессы трансляции или через прямое фосфорилирование 4E-связывающего белка иницирующего фактора (4E-BP) и киназ семейства S6 или в результате стимуляции трансляции мРНК, кодирующих белки аппарата трансляции (рис.16). Эти мРНК относятся к так называемым 5-ТОР мРНК, классу РНК, содержащих на 5'-конце относительно короткие нетранслируемые области с участками, богатыми пиримидиновыми основаниями. В нефосфорилированном состоянии 4E-BP связывает фактор инициации трансляции eIF-4E и препятствует его взаимодействию с фактором инициации eIF-4F. Киназы S6 (S6K1 и S6K2), которые фосфорилируются и активируются комплексом mTORC1, активируют процессы трансляции через фосфорилирование факторов трансляции и рибосомального белка S6.

Механизм, с помощью которого mTORC1 регулирует трансляцию 5-ТОР мРНК, в настоящее время точно неизвестен. Регуляция этого типа зависит от фосфорилирования факторов 4E-BP. Помимо этого, mTORC1 фосфорилирует и ингибирует репрессор полимеразы III – белок MAF1, в результате чего происходит активация синтеза 5S рРНК и тРНК. mTORC1 также стимулирует белковый синтез с помощью активации белка TIF-1A, который взаимодействует с РНК-полимеразой-1 и способствует экспрессии рРНК [9].

Киназный комплекс mTORC1 является основным клеточным сенсором, реагирующим на наличие в среде аминокислот. При наличии последних он активирован и напрямую фосфорилирует белки, тормозящие процесс аутофагии на самом начальном ее этапе. Известно, что аутофагия активируется в клетках, испытывающих недостаток аминокислот

и этот процесс является источником эндогенного пула свободных аминокислот.

mTORC1 регулирует активность транскрипционных факторов, участвующих в регуляции ферментов метаболизма липидов и холестерина, активность ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути. mTORC1 также стимулирует активность и экспрессию центрального регулятора адипогенеза – PPAR- γ , способствуя дифференцировке адипоцитов. Помимо влияния на метаболизм липидов mTORC1 регулирует и другие метаболические процессы в клетке – гликолиз и биогенез митохондрий. mTORC1 активирует транскрипцию и трансляцию транскрипционного фактора HIF1 α , который в свою очередь стимулирует транскрипцию многих ферментов гликолитического пути, а также активность транскрипционного фактора PGC1 α и его взаимодействие с транскрипционным фактором YY1, играющими ключевую роль в регуляции процессов митохондриального биогенеза.

Результатом активации mTORC1, которая напрямую зависит от наличия в среде или плазме крови ростовых факторов, АТФ, аминокислот и кислорода, является стимуляция белкового синтеза и роста (наряду с ингибированием процессов катаболизма).

Известно, что аминокислоты служат строительными блоками для биосинтеза белков, а также субстратами для различных метаболических процессов. Клетки организма должны обладать сигнальными системами, обеспечивающими интеграцию информации о наличии аминокислот и об активности процессов белкового синтеза, метаболизма и аутофагии. Киназный комплекс mTORC1 служит центральным интегратором данных процессов, но, в отличие от ростовых факторов, наличие/отсутствие аминокислот регулирует активность mTORC1 по механизму, независимому от туберин/гамартинового комплекса. Регуляция mTORC1 аминокислотами доминирует над регуляцией ростовыми факторами и другими стимулами, и mTORC1 не может быть активирован ростовыми факторами в отсутствие аминокислот (рис.16).

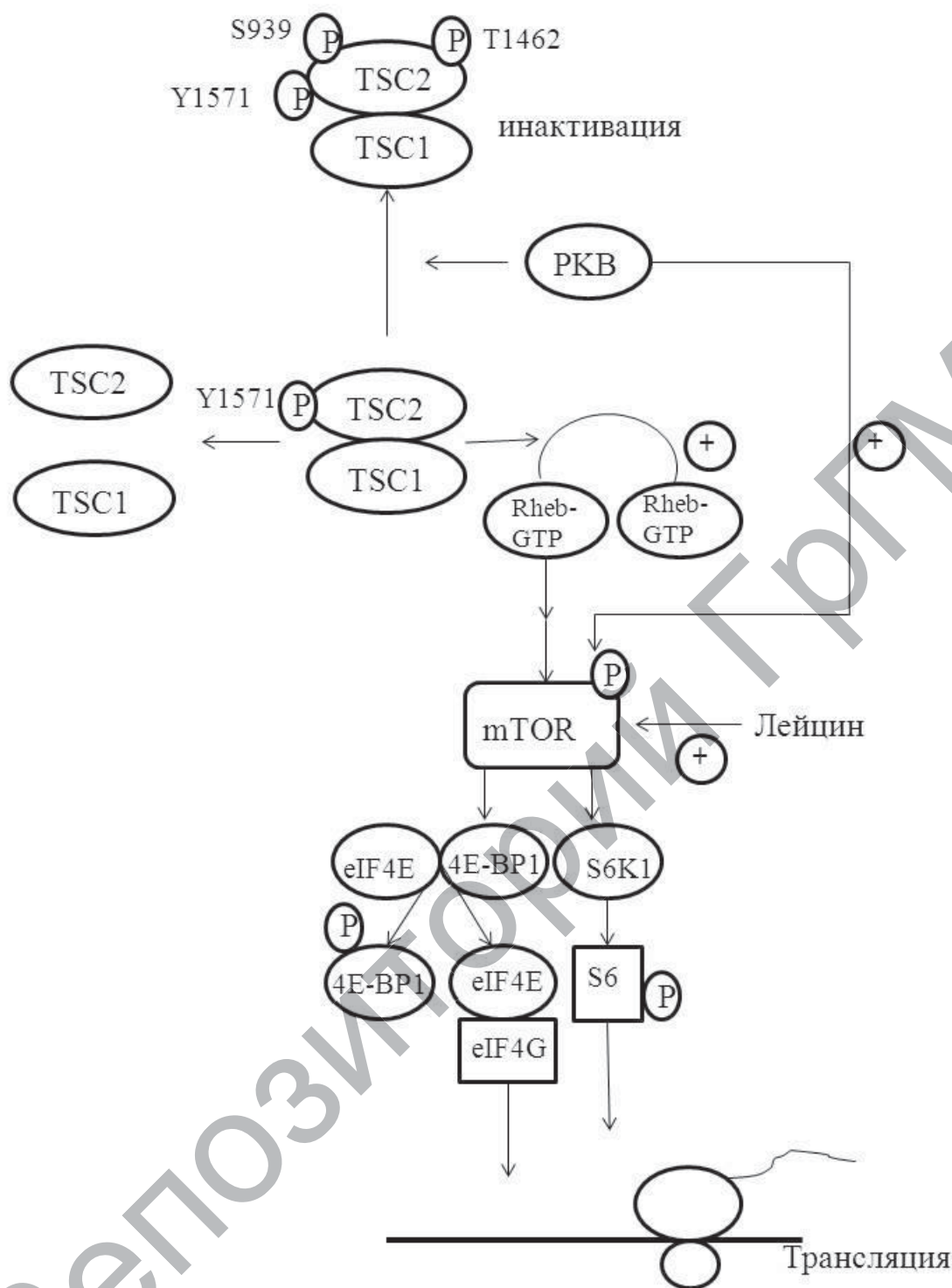


Рисунок 16 – Лейцин как сигнальная молекула. mTOR является одной из начальных киназ, которая фосфорилирует 4E-BP1. 70-kDa рибосомальная протеин S6 (rpS6) киназа 1 (S6K1) облегчает трансляцию типов мРНК, обладающих 5'-последовательностью олигопиримидинов (5'-TOP), включая факторы элонгации. S6K1-зависимая многостадийная активация включает mTOR и PDK1-зависимое фосфорилирование Ser/Thr. Увеличение активности mTOR повышает фосфорилирование S6K1 и 4E-BP1

Клеточный сенсор, ответственный за распознавание аминокислот и активацию mTORC1, окончательно не определен. Одним из таких сенсоров может быть лейцил-тРНК-синтетаза, которая связывается не только с лейцином, но и с Rag ГТФ-азой, что приводит к активации mTORC1. Показано, что лейцин и глутамин активируют mTORC1 через стимуляцию глутаминолиза. Глутаматдегидрогеназа может связываться с лейцином, что приводит к активации фермента и связыванию ГТФ-азы с ГТФ [9].

При активации mTOR наблюдается стимуляция роста мышечной ткани. Известные стимуляторы mTOR: факторы роста, аминокислоты (незаменимые), и особенно АРУЦ. Комплекс mTORC1 является мишенью иммунодепрессанта рапамицина (это объясняет название белка «мишень рапамицина у млекопитающих») [32]. mTORC1 активируется факторами роста или аминокислотами. Причём при активации mTORC1 аминокислотами сигнал опосредуется Rag ГТФазами и приводит к релокализации комплекса. При активации mTORC1 факторами роста сигнальный механизм включает фосфорилирование TSC1/TSC2 под действием Akt, что приводит к активации Rheb ГТФазы, которая активирует непосредственно mTORC1. Активация mTORC1 стимулирует биосинтез белка за счёт фосфорилирования ключевых регуляторов трансляции мРНК. mTORC1 фосфорилирует ингибирующий белок eIF-4EBP1, который в результате высвобождается и деблокирует фактор инициации трансляции 4E (eIF4E) (рис.16, 17) [32]. Кроме того, активированный mTORC1 фосфорилирует и активирует S6K1, что также стимулирует синтез белка. Рапамицин ингибирует mTORC1 и блокирует пролиферацию клеток, что используется при трансплантации органов с целью подавления иммунного ответа. Другой комплекс, mTORC2, активируется только факторами роста. mTORC2, в отличие от mTORC1, не чувствителен к иммуносупрессанту рапамицину [84].

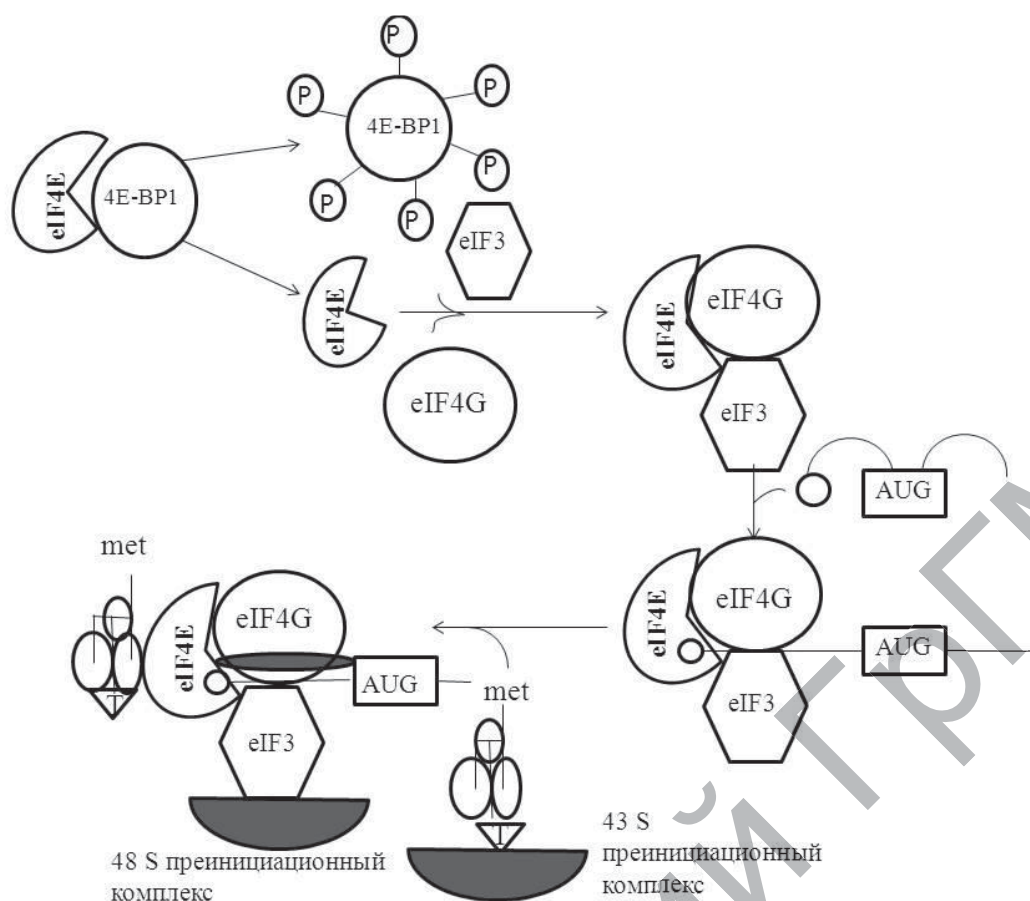


Рисунок 17 – Образование активного комплекса eIF4G-eIF4E. Доступность eIF4E для связывания с eIF4G регулируется через соединение eIF4E с репрессором трансляции 4E связывающим белком (4E-BP). 4E-BP1 является небольшим белком, который в гипофосфорилированном состоянии тесно связан с eIF4E и блокирует способность eIF4E присоединяться к eIF4G. Когда eIF4E связан с 4E-BP1, eIF4E не может связаться с eIF4G. Соответственно, мРНК не может связаться с рибосомой, в результате ингибируется кэп-зависимая трансляция мРНК вследствие физического секвестрирования eIF4E в неактивный комплекс 4E-BP1-eIF4E. eIF4E, связываясь с 4E-BP1, уменьшает последующее фосфорилирование 4E-BP1. Фосфорилирование 4E-BP1 высвобождает eIF4E из комплекса 4E-BP1-eIF4E и позволяет комплексу eIF4E-мРНК связаться с eIF4G и затем с 40S рибосомой

Основной функцией mTOR является участие в регуляции синтеза белка. mTOR интегрирует различные сигнальные пути, в том числе пути связанные с инсулином, ростовыми факторами и митогенами. mTOR функционирует как своего рода сенсор уровня питательных веществ и энергии в клетке, а также окислительно-восстановительного статуса [320, 419]. Нарушение

регуляции mTOR приводит к развитию различных заболеваний, в том числе и разнообразных форм рака. Рапамицин ингибирует mTOR через связывание с внутриклеточным рецептором FKBP12. Блокада mTOR приводит к подавлению пролиферативного сигнала и остановке клеточного цикла в фазе G1. Комплекс mTORC1 состоит из mTOR, белка, регулирующего mTOR (Raptor), LST8/G-protein β -subunit like protein (mLST8/G β L) и PRAS40. Этот комплекс выполняет все вышеописанные функции mTOR. Комплекс активируется инсулином, ростовыми факторами, сывороткой крови, фосфатами, аминокислотами (в основном лейцином) и свободными радикалами кислорода.

mTORC1 ингибируется при низком уровне питательных веществ и ростовых факторов, кофеином, рапамицином, FTS и куркумином. Наиболее изученные мишени mTOR $\rightarrow$ p70-S6 Kinase 1 (S6K1) и 4E-BP1 [320, 419].

Комплекс mTORC2 состоит из mTOR, рапамицин-нечувствительного спутника mTOR (Rictor), G β L и белка, взаимодействующего со стресс-активируемой протеинкиназой-1 млекопитающих (mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1 (mSIN1)). mTORC2 регулирует функционирование цитоскелета через активацию F-актиновых микрофиламентов, паксиллина, RhoA, Rac1, Cdc42 и протеинкиназы C. mTORC2 фосфорилирует серин/треониновую протеинкиназу Akt/PKB по сериновому остатку. mTORC2 регулируется инсулином, ростовыми факторами, сывороткой и уровнем энергетических субстратов [97].

Участвуя в регуляции различных клеточных процессов (транскрипции, синтезе белка, пролиферации) и выживании клеток, а также в реакции на окислительный стресс, mTOR принимает активное участие в регуляции процесса старения. Как же mTOR регулирует синтез белка? Он активирует серин/треониновую протеинкиназу p70S6K, которая в свою очередь фосфорилирует, и таким образом активирует рибосомальный белок S6, что индуцирует синтез белка на рибосомах.

Показано, что аминокислоты регулируют биосинтез белка через mTOR [332], и что лейцин активирует mTOR в клетках карциномы печени. Лейцин стимулирует биосинтез белка в

скелетных мышцах и жировой ткани голодных крыс через рапамицин-чувствительный путь [202]. Следовательно, активность mTORC1 регулируется аминокислотами [320, 419]. АРУЦ, особенно лейцин, способствуют продукции альбумина гепатоцитами также через сигнальную систему mTOR [175]. С другой стороны, mTORC2, практически не реагирует на рапамицин, не чувствителен к нутриентам или изменению энергетического статуса, но реагирует на ростовые факторы, такие как инсулин. Инсулин активирует mTORC2, повышая активность протеинкиназы B (PKB)/Akt. Активированный путь PKB/Akt способствует проявлению метаболического действия инсулина, например, усиливает транспорт глюкозы и передает на mTORC1 сигнал о стимуляции биосинтеза белка и роста клетки. Нарушение регуляции элементов пути mTOR может наблюдаться на уровнях PKB/AKT, PI3K, 4E-BP1, eIF4E, Rheb, S6K1, LKB1, PTEN и TSC1/TSC2, как это показано во многих типах опухолей [320, 419].

Неконтролируемая активация mTORC1 (например, в опухолевых клетках) приводит к неспособности клетки адекватно отвечать на развитие метаболического стресса вследствие неспособности снижать активность процессов анаболизма, в результате чего клетки с активированной mTORC1 гиперчувствительны к недостатку глюкозы и недостатку ненасыщенных жирных кислот в условиях гипоксии. Как уже указывалось, добавки АРУЦ уменьшают частоту развития гепатоцеллюлярной карциномы, а поскольку сигнальный путь mTOR вносит существенный вклад в образование опухоли, клеточная чувствительность является одним из опухоле-супрессивных механизмов [149]. Ряд опухолевых супрессоров, таких как p53, p21, p16, Arf и pRB, функционируют как регуляторы чувствительности, а сенсорный механизм является одним из важнейших регуляторов [278]. Семейство p53 содержит три транскрипционных фактора – p53, p63 и p73 – со схожей доменной структурой и аминокислотной последовательностью. Это семейство регулирует клеточный цикл, индуцирует апоптоз. Как указывалось выше, mTOR регулирует рост клеток и аутофагию в зависимости от наличия ростовых факторов и уровня нутриентов, в том числе лейцина. В то время как mTOR

подавляет или усиливает действие p53, p73 ингибируется mTOR. Это имеет важное значение, т.к. в отличие от p53, p73 не мутирует в опухолях. mTOR является положительным регулятором для p53 и отрицательным для p73. Кроме того, в клетках человеческого эпителия, обработанных рапамицином, обнаруживалось увеличение уровня p73 и снижение уровней p53 и p63. Возможно, это необходимо, чтобы полностью активировать p73 в ответ на метаболический стресс. p53 активирует или подавляет аутофагию в зависимости от специфики клетки (набора ферментов, сигнальных молекул и т.д.). Показано, что p73 активирует аутофагию и различные ассоциированные с ней гены, подавляющие mTOR. Анализ хроматина показал, что эндогенный p73 связывается с регуляторными регионами таких генов, как ATG5, ATG7 и UVRAG. Остается неизвестным, каким образом p73 регулирует уровень экспрессии этих генов в ответ на стресс. Так как члены семейства p53 играют ключевую роль в подавлении опухолевых процессов, задействованы в процессах развития, старения и нейродегенерации, понимание механизма, согласно которому эти транскрипционные факторы регулируют процесс аутофагии, имеет значение при многих заболеваниях [278].

Большая часть опухолевых клеток человека требует для пролиферации активации теломеразы, в регуляции активности которой принимают участие аминокислоты [201]. Это подтверждает связь между формированием теломеров, концентрациями свободными аминокислотами и супрессией опухоли. В дополнение к стратегии ингибирования теломеразы, как мишени терапии соответствующими химиотерапевтическими средствами, которые вызывают повреждение ДНК, можно индуцировать чувствительность разных типов опухолевых клеток в культуре и *in vivo*. Лечение химиотерапевтическими средствами в комбинации с АРУЦ повышает его эффективность [175]. Таким образом, добавки АРУЦ могут использоваться также в терапии онкологических заболеваний с целью ингибирования теломеразы.

ГЛАВА 9

АМИНОКИСЛОТЫ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ КАК СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ

Аминокислоты, особенно АРУЦ, играют важнейшую роль в регуляции секреции гормонов и действуют как внутриклеточные сигнальные молекулы. Появляется все больше доказательств того, что аминокислоты выполняют важнейшие регуляторные функции в метаболизме, причем на уровне всего организма.

Показано, что отдельные аминокислоты или их комбинации обладают уникальными физиологическими свойствами, так, например, АРУЦ регулируют транскрипцию и трансляцию генов. Сигнальные белки, такие как мишень млекопитающих к рапамицину (mTOR), действуют как сенсоры АРУЦ, особенно лейцина, модулируя анаболическое действие белковой пищи. Аминокислоты стимулируют биосинтез белка и ингибируют распад белка в скелетной мышце и печени. Однако специфическая роль АРУЦ в регуляции синтеза и протеолиза индивидуальных белков или белков с общими функциями остается неизученной, в отличие от наиболее известной функции аминокислот в организме – участия в биосинтезе белка (рис.18) [282].

Как известно, аминокислоты стимулируют секрецию разнообразных, а нередко и с противоположным механизмом действия факторов – инсулина, глюкагона, гормона роста и инсулиноподобного ростового фактора-1. Однако способность к стимуляции секреции гормонов существенно различается между отдельными аминокислотами. Rocha [336] в экспериментах на собаках показал, что при внутривенном введении аминокислот наиболее выраженная стимуляция секреции инсулина наблюдалась при введении триптофана, лейцина и аспартата, тогда как валин, аланин и гистидин оказывали минимальный эффект. Эти результаты показывают, что две аминокислоты, имеющие похожую структуру (лейцин и валин относятся к АРУЦ), могут оказывать разные физиологические эффекты. Напротив, лейцин, изолейцин и валин слабо влияли на секрецию глюкагона, тогда как введение глицина, аланина, серина или

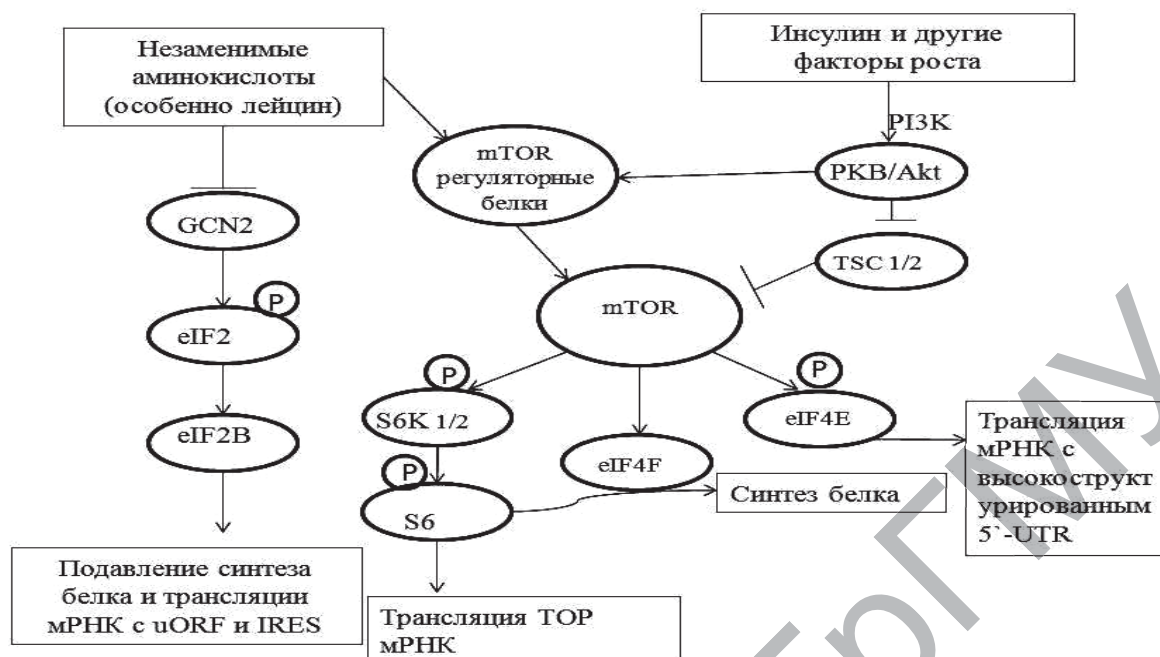


Рисунок 18 – Специфическая роль АРУЦ в регуляции биосинтеза белка. Незаменимые аминокислоты, в особенности лейцин, могут стимулировать синтез белка через mTOR-опосредованное фосфорилирование фактора эукариотической инициации 4E-связывающего белка 1 (eIF4E-BP1) и p70 S6 киназы 1 и 2 (S6K1/2); транскрипты мРНК с высоко структурированными 5'-нетранслируемыми регионами (5'-UTR); концевые, содержащие олигопиримидиновые участки (TOP); протеинкиназа B (PKB/Akt); tuberous sclerosis complexes 1 and 2 (TSC1/2). и модуляции ингибирующего действия туберозного склероза комплексов 1 и 2 (TSC1/2); недеперессурируемая киназа-2 (GCN2); specific upstream open reading frames (uORFs) или an internal ribosome entry site (IRES) (Layman D.K., 2003, с дополнениями)

аспартата стимулировало секрецию глюкагона одновременно с минимальным воздействием на секрецию инсулина. Эти данные показывают, что лейцин и изолейцин не только стимулируют высвобождение инсулина из β -клеток, но также могут ингибировать секрецию глюкагона. Недостатком этих экспериментов является то, что все аминокислоты вводили в одинаковой дозе – 1 ммоль. Поскольку плазменное и тканевое содержание свободных аминокислот различаются, инфузия их в одинаковом количестве, несомненно, приводит к разной степени увеличения их концентраций в аминокислотном пуле плазмы (причем не только аминокислот, но и метаболически сопряженных с ними соединений!).

Floyd [113] сравнил эффекты незаменимых аминокислот

(аргинин, лизин, фенилаланин и лейцин), в отдельности и в комбинациях, на уровень инсулина в плазме человека. Наибольшая концентрация инсулина в плазме крови регистрировалась через 1 ч после введения. Парентеральная инфузия аргинина используется в течение многих лет для стимуляции секреции инсулина. В данном эксперименте увеличение концентрации инсулина было практически таким же, как и после введения всех 10 незаменимых аминокислот. Показано, что добавление смеси свободных аминокислот, полученной путем гидролиза белков, обогащенной лейцином и фенилаланином в глюкоза-содержащем растворе, приводит к появлению показателей глюкозотолерантного теста, характерных для лиц с сахарным диабетом 2 типа.

Функции свободных аминокислот могут различаться в зависимости от физиологического состояния. Например, в зрелом возрасте и при старении изменяется способность свободных аминокислот стимулировать секрецию гормонов. Показано, что лейцин, стимулируя секрецию инсулина у детей, но обладает меньшей активностью у взрослых [236]. Подобным образом секрецию гормона роста стимулирует смесь аминокислот. Поскольку циркулирующие концентрации гормона роста и его основного эффектора инсулиноподобного ростового фактора-1 с возрастом снижаются, вполне вероятно, что активация аминокислотами синтеза и секреции этих гормонов с возрастом также уменьшается.

Качественные изменения пищевого рациона модулируют способность свободных аминокислот стимулировать секрецию гормонов и метаболизм в целом. При высоком содержании углеводов в рационе (65% от общей потребности в энергии против 45% в физиологических условиях) увеличения концентрации гормона роста в ответ на введение аргинина не отмечено. Отсутствуют детальные исследования о влиянии потребления АРУЦ с пищей на секрецию гормонов. Известно, что после 3-х дней голодания в плазме концентрации отдельных аминокислот могут изменяться в широких пределах. Парадоксально, но уровень лейцина, сильного стимулятора секреции инсулина, существенно повышается при голодании, тогда как уровень самого гормона падает. В то же время концентрации аргинина и аланина, аминокислот, которые стимулируют высвобождение глюкагона в

физиологических условиях, снижаются, хотя содержание глюкагона повышается при голодании. В этом же исследовании показано, что, несмотря на повышение уровня глюкагона, скорость эндогенной продукции глюкозы после 3-х дней голодания снижается. Голодание повышает также скорость кругооборота лейцина и индекс распада белка в организме. Увеличение уровня лейцина и падение концентрации инсулина, вероятно, логично, поскольку инсулин обычно подавляет катаболизм белков, тогда как увеличение уровня глюкагона оказывает катаболический эффект на АРУЦ, повышая, например, окисление лейцина [303]. Однако конкретный механизм(ы), лежащий в основе изменений уровней отдельных аминокислот, гормонов и продукции глюкозы при голодании, требует дальнейшего изучения.

Как уже указывалось ранее, в настоящее время среди индивидуальных аминокислот роль лейцина как регулятора белкового обмена наиболее изучена. Так, показано, что внутривенное введение лейцина человеку приводит к снижению в плазме концентраций других аминокислот. Эти изменения могут быть результатом снижения распада белка, что уменьшает скорость высвобождения аминокислот в циркуляцию или повышенного использования аминокислот для синтеза белка и метаболизма. При инфузии лейцина снижается как скорость распада белка, так и окисление валина [280]. Более того, баланс (различие между потреблением и высвобождением) таких незаменимых аминокислот, как валин, лизин и фенилаланин, становится в большей степени положительным [280]. Этот результат – уменьшение скорости высвобождения аминокислот из скелетных мышц, указывает на торможение скорости распада белка. В этом остром эксперименте не отмечено повышения скорости синтеза белка в скелетных мышцах. Следовательно, основным механизмом, по которому снижаются уровни незаменимых аминокислот после инфузии лейцина, является именно уменьшение протеолиза.

Показано, что АРУЦ оказывают специфический стимулирующий эффект на сигнальные пути, инициирующие трансляцию mРНК, что приводит к повышению синтеза белка у животных [241]. Однако, хотя лейцин и другие АРУЦ участвуют в регуляции этапов трансляции и транскрипции в биосинтезе белка, что показано как при острой инфузии одного лейцина [280], так и

смеси всех трех АРУЦ, стимуляция синтеза белка в скелетных мышцах человека отсутствовала. Это могло быть следствием падения доступности других незаменимых аминокислот, необходимых для синтеза белка.

Регуляторное действие свободных аминокислот различается в тканях организма. Уровень свободных аминокислот играет ключевую роль в биосинтезе и протеолизе в органах брюшной полости и скелетных мышцах. Исследования, проведенные на сытых животных, указывают на отток свободных аминокислот из скелетных мышц в системную циркуляцию. В последующем аминокислоты захватываются печенью и другими органами, где биосинтез белка поддерживается на постоянном уровне и потребление ими свободных аминокислот остается высоким даже при последующем голодании [279]. После приема пищи происходит постепенная абсорбция свободных аминокислот из просвета кишечника в энтероциты. Затем свободные аминокислоты высвобождаются в циркуляцию и по печеночной вене поступают в печень. После метаболической фильтрации гепатоциты высвобождают свободные аминокислоты в общую циркуляцию. Когда концентрации свободных аминокислот в плазме повышаются, существенно увеличивается их захват скелетными мышцами. Следовательно, скелетные мышцы, которые служат своеобразным депо свободных аминокислот, быстро захватывают аминокислоты после приема пищи и затем высвобождают их по мере необходимости. Этот процесс чрезвычайно важен для поддержания аминокислотного пула плазмы, сохранения транспортных процессов, обеспечивающих поступление аминокислот в клетки для биосинтеза белков, например таких, как факторы свертывания крови, альбумин, белки острой фазы в печени или иммуноглобулины и цитокины в клетках иммунной системы.

В сытом состоянии у млекопитающих скорость биосинтеза белка сохраняется несколько более высокой, чем скорость протеолиза в органах брюшной полости, что приводит к положительному азотистому балансу. При голодании в скелетной мышце распад белка выше, чем его биосинтез, что приводит к высвобождению свободных аминокислот в циркуляцию и формированию отрицательного азотистого баланса.

В то время как инсулин нивелирует различия между синтезом и распадом белка в скелетной мышце, он оказывает незначительный эффект на эти процессы в органах брюшной полости. Показано, что стимулирующий эффект аминокислот на белковый баланс сохраняется даже при базальном уровне инсулина. Некоторые исследователи считают, что основной эффект инсулина заключается именно в торможении распада белка [303]. Многократно показано, что инсулин одновременно усиливает стимулирующий эффект свободных аминокислот на биосинтез белка в скелетной мышце. Следовательно, эти данные свидетельствуют о том, что в скелетной мышце инсулин является основным регулятором белкового обмена, тогда как аминокислоты в основном влияют на биосинтез белка. Напротив, в паренхиматозных органах инсулин не оказывает влияния на метаболизм белка, тогда как свободные аминокислоты подавляют распад белка и повышают его синтез [303]. Показано, что транскрипция специфических генов и трансляция специфических белков могут селективно увеличиваться в скелетной мышце после раздельной или совместной инфузии инсулина и аминокислот [365].

Влияние отдельных аминокислот на биосинтез белка в мышцах [303], вероятно, осуществляется через внутриклеточный сигнальный путь mTOR и p70 S6-киназу, которая участвует в инициации трансляции. Активация (фосфорилирование) этих молекул имеет место при пероральном или внутривенном введении аминокислот самкам, но, что интересно, не происходит при инфузии инсулина крысам-самцам. Доказано, что АРУЦ действуют как сигнальные молекулы в ключевых регуляторных точках, контролирующих транскрипцию и трансляцию. В специфических условиях, таких как депривация аминокислот, снижение концентраций незаменимых аминокислот могут изменять экспрессию отдельных генов, воздействуя на аминокислота-чувствительные элементы [183].

mTOR является сенсором наличия аминокислот и инициирует инсулинзависимый каскад, регулируя процесс инициации трансляции через нижележащие эффекторы, такие как p70 S6 киназа и эукариотические иницирующие факторы. Регуляция с участием сигнального каскада mTOR более чувствительна к

концентрациям внутриклеточных аминокислот, чем к внеклеточным аминокислотам, что еще раз доказывает наличие у комплекса сенсорных свойств [322]. Эффект АРУЦ на стимуляцию биосинтеза белка через сигнальный комплекс (путь mTOR) может осуществляться путем преимущественного воздействия на гены-мишени. Показано, что избирательный контроль трансляции с помощью АРУЦ достигается узнаванием и связыванием со специфическими структурными доменами, присутствующими в отдельных транскриптах генов, таких как uORF (upstream open reading frame), внутренние рибосомальные сайты (IRES), терминальные олигопиримидиновые последовательности (TOP) и специфические высокоструктурированные нетранслируемые 5'-регионы (UTRs) [322, 323]. Таким образом, кооперативное взаимодействие сигнальных путей с участием инсулина и свободных аминокислот может регулировать экспрессию специфических генов на уровне транскрипции или трансляции в ответ на состояние внеклеточной среды.

Между тем, несмотря на то, что аминокислоты могут стимулировать высвобождение инсулина, показано, что избыточное введение аминокислот ингибирует утилизацию глюкозы [317]. В ситуациях, где используются добавки АРУЦ, возможны побочные эффекты, такие, например, как ингибирование инсулинзависимого потребления глюкозы. Одним из механизмов этого явления может быть преимущественное окисление аминокислот, приводящее к сохранению пула глюкозы в организме. При инфузии лейцина эндогенная продукция глюкозы снижается, скорость ее метаболического клиренса также падает, что стабилизирует уровень моносахарида в плазме [280]. Кроме того, повышение содержания свободных аминокислот ингибирует ранние стадии инсулинзависимого транспорта глюкозы и глюконеогенез [382]. Это ингибиторное действие осуществляется путем фосфорилирования тирозина на субстратах инсулинового рецептора-1 и -2, и последующим взаимодействием рецептора с регуляторной субъединицей фосфоинозитол-3-киназы, что приводит к снижению активности фермента – протеинкиназы В (PKB/Akt) и mTOR [382, 371].

ГЛАВА 10

ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН, ВАЛИН И ИММУННАЯ СИСТЕМА

Несмотря на большой интерес и однозначно положительное влияние свободных аминокислот на иммунную систему, мало известно о механизмах действия АРУЦ на функции иммуноцитов. Клетки иммунной системы человека используют АРУЦ для синтеза белков и обладают всеми ферментами для окисления лейцина, изолейцина и валина [2]. Доказано, что при воздействии на организм патогенов заметно повышается зависимость иммунной системы от нутриентов. В первую очередь это субстраты, обеспечивающие клетки энергией и являющиеся предшественниками для синтеза новых структурных молекул и клеток, эффекторных молекул (например, антител, цитокинов, белков острой фазы), а также компонентов антиоксидантной защиты (например глутатиона). Физиология и биохимия инфицированного организма фундаментально отличается от стандартного (нормального) состояния, особенно в том, что касается иммунной системы, и требует повышенной обеспеченности незаменимым нутриентами [3].

Интенсификация катаболизма мышечных белков позволяет увеличить поток свободных аминокислот для синтеза новых клеток, белков, пептидов, обеспечивающих иммунный ответ. Более того, аминокислоты могут быть использованы в качестве энергетического субстрата непосредственно в клетках иммунной системы, в том числе путем их превращения в другие аминокислоты (глутамин) или в глюкозу.

Степень катаболизма в организме оценивается по экскреции азота с мочой. Известно, например, что при обширных ожогах или тяжелой травме она повышается с 9 г/сутки при состоянии средней тяжести до 20–30 г/сутки при ожогах 2–3 степени. Если при бактериальной инфекции потеря азота организмом взрослого человека может быть эквивалентна 60 г тканевого белка, то в периоды персистирующей малярии она составляет свыше 500 г белка. Одновременно катаболические состояния сопровождаются повышением чувствительности к патогенам. Это может быть связано, в том числе, и с недостаточным обеспечением

субстратами (включая аминокислоты) клеток иммунной системы. Следовательно, добавки аминокислот, увеличивающие поступление ключевых аминокислот для нужд иммунной системы, в определенных клинических условиях могут улучшить результат лечения. Среди наиболее часто используемых с этой целью индивидуальных аминокислот – глутамин, аргинин и (в меньшей степени) серосодержащие аминокислоты. Намного менее известно о влиянии доступности АРУЦ на функционирование органов иммунной системы.

Исследования на культурах клеток и в экспериментах на животных показали, что АРУЦ необходимы для оптимального функционирования иммунной системы [20, 21]. Однако, помимо участия лейцина, изолейцина и валина в биосинтезе белков и пептидов, многие аспекты влияния АРУЦ на иммунный ответ вообще не изучены. Например, отсутствуют данные о влиянии АРУЦ как метаболитов и/или сигнальных молекул на регуляцию продукции иммуноцитами разных классов иммуноглобулинов и цитокинов, на процессинг антигенов и их презентацию. Хотя АРУЦ окисляются клетками иммунной системы, по-крайней мере *in vitro*, их вклад в качестве субстратов для генерации энергии кажется малозначительным, но это в физиологических условиях, а при патологии? Действительно, клеткам в искусственной культуральной среде доступно много других источников энергии, включая глюкозу и глутамин, а относительный вклад АРУЦ в энергетику клетки достаточно мал. Следовательно, общее отсутствие какой-либо одной АРУЦ не должно влиять на способность клеток генерировать АТФ. С другой стороны, АРУЦ являются донорами азота и углеродных скелетов для синтеза других аминокислот, того же глутамина, которые важны для поддержания функционирования иммунных клеток. Между тем, в клеточных культурах при отсутствии в инкубационной среде одной из АРУЦ клетки теряют способность к биосинтезу белка и лишены возможности отвечать на стимуляцию митогенами.

Клетки иммунной системы активно включают АРУЦ в белки. При этом включение изолейцина наибольшее в лимфоцитах, затем в эозинофилах и нейтрофилах [68], что, возможно, отражает специфические различия между клетками в отношении их биосинтетической активности и типов

продуцируемых пептидов и белков. Иммунные клетки экспрессируют дегидрогеназу разветвленных кетокислот и декарбоксилазу, и таким образом окисляют АРУЦ. Так, показано, что *in vitro* лимфоциты человека захватывают и окисляют лейцин [211].

Помимо лейцина, изолейцин также активно окисляется нейтрофилами и лимфоцитами человека. Митогенная стимуляция лимфоцитов повышает транспорт лейцина в клетки на 270%, трансаминирование лейцина – на 195% и окисление лейцина – на 122% [211]. Добавление кетоизокапроновой кислоты повышает активность лимфоцитарной дегидрогеназы разветвленных кетокислот, указывая на то, что избыток лейцина может стимулировать собственное окисление. Добавление глутамина, валина и изолейцина снижает количество окисляемого лейцина лимфоцитами человека [343].

Потребление АРУЦ иммунными клетками постепенно повышается на протяжении клеточного цикла. Утилизация всех трех АРУЦ на протяжении клеточного цикла возрастает одинаково, хотя скорость потребления различается – лейцин > изолейцин > валин. Наибольшая скорость потребления АРУЦ наблюдается в S фазе, затем отмечается прогрессирующее падение в периоды G2 и M, а затем опять оно значительно увеличивается во время G1 фазы. Очевидно, что скорость потребления АРУЦ отражает степень белок-синтезирующей активности.

Проведенное изучение влияния курсового введения лейцина в дозе 100 мг/кг на гистологическое строение селезенки показало, что после введения лейцина увеличиваются размеры мальпигиевых телец и периартериальных лимфоидных влаглищ. В мальпигиевых тельцах возрастала инфильтрация лимфоцитами периартериальной зоны, увеличивалась в размере и мантийная зона. В красной пульпе регистрировали умеренно расширенные венозные синусы; между ретикулярными клетками стромы формировались скопления гемолизированных эритроцитов.

Одновременно в тимусе крыс после введения лейцина ширина коркового вещества уменьшалась, а мозгового, напротив, расширялась. В мозговом веществе были увеличены просветы сосудов, уменьшалось количество лимфоцитов, а количество телец Гасала, напротив, возрастало. Повышалось содержание

плазматических клеток. Среди популяции лимфоцитов в корковом веществе тимуса появлялись скопления макрофагов. У животных, получавших лейцин, чаще чем в контрольной группе в подкапсулярной зоне встречались большие лимфоциты. Таким образом, относительно небольшое количество лейцина при курсовом введении способно существенно влиять на гистологическое строение основных органов иммунной системы.

Поскольку значительная часть клеток иммунной системы локализована в тонком кишечнике, в нашей лаборатории был проведен анализ гистологического строения стенки тонкого кишечника. Внутривентрикулярное курсовое введение лейцина оказывало неоднозначное влияние на клетки тонкого кишечника. Так, уменьшалась высота эпителия ворсинок, особенно расположенных в верхушечной части, а их цитоплазма часто была вакуолизирована. Оксифильные свойства цитоплазмы энтероцитов резко снижались, а ядра пикнотизировались. Многие из эпителиоцитов подвергались десквамации, обнажая при этом обильно инфильтрированную лимфоцитами соединительнотканную основу ворсинок. Слизистая тонкого кишечника была покрыта толстой пленкой слизи с обилием в ней десквамированных эпителиоцитов. Размеры бокаловидных клеток в эпителии ворсинок резко уменьшались из-за снижения в них количества секреторных гранул.

Таким образом, ежедневное пятикратное энтеральное введение крысам лейцина в дозе 100 мг/кг массы приводило к заметным морфофункциональным изменениям в органах иммунной системы и тонком кишечнике. Мы предполагаем, что лейцин, вероятно, стимулирует синтез белков и функциональную активность микробно-тканевого комплекса в целом, что должно оказывать системное действие на макроорганизм.

Ранние работы Eagle и сотрудников показали, что лейцин, изолейцин, валин находятся в перечне 13 аминокислот, которые абсолютно необходимы для культивации клеток, включая лимфоциты. Концентрации этих аминокислот в классической культуральной среде должны составлять 0,38; 0,38 и 0,17 ммоль/л, соответственно. Эти концентрации в 2-3 раза выше, чем обычно определяются в плазме здоровых лиц. Отсутствие одной единственной аминокислоты из этого перечня при культивации

лимфоцитов приводит к полному прекращению синтеза белка, что отражает незаменимость этих аминокислот. Отсутствие в среде лейцина, изолейцина или валина также нарушает способность лимфоцитов пролиферировать в ответ на митогены (ФГА) на 82%, 90% и 100%, соответственно [87]. Очевидно, что это связано с нарушением биосинтеза белка в этих клетках.

Крайне мало информации об иммунологических эффектах различных концентраций АРУЦ, включая физиологические и фармакологические. Показано, что изменение общей концентрации АРУЦ с 0,4 до 0,2 ммоль/л оказывало незначительный эффект на рост лимфоцитов [72]. Увеличение общей концентрации АРУЦ свыше 1 ммоль/л не повышало числа клеток, а напротив, наблюдалась тенденция к их снижению. Увеличение в среде концентраций отдельных АРУЦ на 300% или 1000% выше нормальной не изменяло пролиферативный ответ Т-лимфоцитов человека на ФГА. Это показывает, что пролиферация может нарушаться при снижении уровней АРУЦ, но не изменяется при увеличении концентрации данных аминокислот выше значений, наблюдаемых в плазме [75].

Исследования на клеточных культурах еще раз подтвердили, что АРУЦ абсолютно необходимы лимфоцитам для синтеза белка и нуклеиновых кислот, пролиферативного ответа лимфоцитов в ответ на стимуляцию самыми разными митогенами – фитогемагглютинином, конканавалином А или липополисахаридом [26].

У мышей, недостаточное содержание АРУЦ в рационе нарушает иммунные функции и повышает чувствительность к патогенам [72]. Ограничение в рационе лейцина или валина (25–50% от потребности) вызывает снижение цитотоксического лизиса опухолевых клеток на 80–90%. При этом дефицит лейцина оказывает более выраженное влияние на иммунную функцию, чем недостаточное содержание изолейцина или валина, что можно объяснить их разным действием на mTOR-сигнальный механизм. Кроме того, мыши на рационе с недостаточным содержанием АРУЦ демонстрируют повышенную чувствительность к *Salmonella typhimurium* – у них нарушается продукция антител, снижаются в плазме концентрации

трансферрина и С3 компонента комплемента, повышается число бактерий в печени и селезенке.

Поскольку АРУЦ конкурируют за транспорт через плазматическую мембрану с другими аминокислотами, аминокислотный дисбаланс может быть причиной нарушения иммунитета, обусловленного внутриклеточным дефицитом, например, триптофана, особенно в случае содержания животных на низкобелковом рационе.

При циррозе, вызванном тетрахлорметаном, добавка 10% АРУЦ повышает число лимфоцитов в печени (особенно CD3⁺) и ЕК-клеток. При введении АРУЦ существенно активируется лектин-зависимая цитотоксичность по сравнению с животными, получавшими нормальный рацион. Дополнительное поступление лейцина активирует синтез плейотропной субстанции – фактора роста гепатоцитов, способствующей усилению митогенной активности здоровых клеток. Поскольку указанная субстанция вырабатывается купферовскими клетками, это подтверждает непосредственное влияние АРУЦ на клетки иммунной системы [27]. Добавки в рацион 6 г смеси АРУЦ (60% лейцина, 20% изолейцина и 20% валина) повышают продукцию γ -интерферона, снижают высвобождение ИЛ-4, предупреждают снижение синтеза ФНО- α и ИЛ-1 мононуклеарами и стимулируют пролиферацию лимфоцитов [47].

β -Гидрокси- β -метилбутират, метаболит лейцина также может принимать участие в регуляции иммунитета. В исследованиях *in vitro* показано, что это соединение в концентрации 0,1-2,0 мМ повышает пролиферацию, фагоцитоз и экспрессию Fc-рецепторов в макрофагах. Добавки в рацион 0,1% β -гидрокси- β -метилбутирата повышают иммунитет и снижают смертность на моделях инфекционных поражений разных видов животных.

Длительная тяжелая физическая нагрузка ассоциируется с транзиторной иммунодепрессией, обусловленной изменениями метаболизма в макрофагах, нейтрофилах и лимфоцитах. Эти нарушения имеют многофакторную природу и включают гормональный дисбаланс, ингибирование продукции макрофагами и Т-лимфоцитами цитокинов, изменение экспрессии белков теплового шока и падение в плазме

концентрации важнейшего нутриента и биорегулятора глутамина [311]. Как уже указывалось, АРУЦ являются донорами азота для синтеза глутамина. Показано, что добавки АРУЦ (6 г/день) спортсменам в течение 2–4 нед. или 3 г за 30 мин. до начала забега на длинные дистанции препятствуют падению концентрации глутамина в плазме и положительно влияют на показатели иммунитета [47]. Хотя в некоторых экспериментальных ситуациях добавки АРУЦ не оказывали влияния на пролиферативный ответ лимфоцитов при внесении митогенов, но они предупреждали на 40% падение пролиферации лимфоцитов, наблюдаемое после физической нагрузки. Показано, что мононуклеары крови спортсменов после нагрузки уменьшают продукцию ряда цитокинов, включая ФНО- α , ИНФ- γ , ИЛ-1 и ИЛ-4. Добавки АРУЦ восстанавливают продукцию ФНО- α и ИЛ-1 и повышают продукцию ИНФ- γ .

Недостаточное поступление лейцина или валина с рационом (25% или 50% от стандартного количества) дозозависимо приводит к достоверному нарушению лизиса опухолевых клеток лимфоцитами селезенки у мышей-опухоленосителей [181].

В другом исследовании смесь АРУЦ добавляли в рацион, содержащий 14% казеина и в условиях экспериментального цирроза печени, выделяли печеночные лимфоциты. Контрольные крысы при этом получали стандартный рацион, содержащий 24% казеина. Дополнительное потребление АРУЦ повышало число лимфоцитов в печени, увеличивало содержание цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров. Функциональная активность данных клеток также повышалась [383]. Эти исследования показали, что дополнительное количество АРУЦ в рационе может повышать цитотоксическую активность клеток, т.е. способствовать элиминации инфицированных или опухолевых клеток.

Petro и Bhattacharjee [316] содержали мышей на рационах с физиологическим количеством белка и отдельными аминокислотами, за исключением АРУЦ, а затем исследовали число клеток и их чувствительность к инфицированию *Salmonella typhimurium*. Ограничение в рационе какой-либо одной из АРУЦ повышало частоту гибели от *S. typhimurium* SR11 (или SL3770) и

способствовало более высокому обсеменению *S. typhimurium* печени и селезенки животных.

Способность перитонеальных макрофагов к фагоцитозу и киллингу *S. typhimurium* не изменялась при содержании животных на рационе, дефицитном по АРУЦ. Однако вакцинация АРУЦ-дефицитных мышей убитыми *S. typhimurium* SL3770 характеризовалась низкой выработкой антител. Эти данные показывают, что недостаточность в рационе какой-либо одной из АРУЦ приводит к нарушению защитных механизмов в отношении *S. typhimurium* (возможно, и других микроорганизмов) и к недостаточному иммунному ответу при их поступлении в макроорганизм. При недостаточном содержании АРУЦ в рационе нарушаются клеточные функции не только макрофагов, но и лимфоцитов. Дефицит в организме АРУЦ приводит к уменьшению числа иммуноцитов в селезенке, возможно, как следствие снижению активности пролиферации лимфоцитов *in vivo*. Хотя абсолютный пролиферативный ответ лимфоцитов селезенки на ФГА незначительно изменялся при ограниченном поступлении АРУЦ, индекс стимуляции (т.е. пролиферация в отсутствии и в присутствии митогена) снижался. Это подтверждается и уменьшением размеров селезенки у животных на рационе с недостаточным содержанием АРУЦ.

Таким образом, недостаточное содержание АРУЦ в рационе нарушает функцию отдельных звеньев иммунной защиты, включая киллерную активность клеток, пролиферацию лимфоцитов. Однако избыток лейцина в рационе, содержащем мало белка, также приводит к нарушению иммунной функции. Так, кормление крысят рационом, содержащим 3% сухой массы лейцина в течение 2 нед., и затем 7% сухой массы лейцина в течение 6 нед. приводит к заметному уменьшению числа розеткообразующих клеток селезенки. Следует отметить, что данный эффект наблюдался только в том случае, если рацион содержал 4% казеина, но не в случае кормления животных рационом, обогащенным казеином (18%) [82]. На низкобелковом рационе при чрезмерном добавлении АРУЦ уменьшалось также количество антител в сыворотке крови в ответ на иммунизацию эритроцитами барана. Разрушающий иммунную функцию эффект избытка лейцина при низком содержании казеина в рационе

удавалось предотвратить, добавляя в корм другие АРУЦ. Очевидно, что эти эффекты могли быть следствием аминокислотного дисбаланса, в том числе, среди АРУЦ [37].

На эффекты отдельных аминокислот могут оказывать влияние и другие биологически активные соединения. Так, витамин В₂ повышает выживаемость мышей при введении летальной дозы эндотоксина [381]. Комбинация витамина В₂ и аминокислот, среди которых были все три АРУЦ, существенно повышала выживаемость животных. Имело значение и специфическое действие аминокислот: изолейцин или валин (но не лейцин) повышали эффект витамина В₂.

Клинические исследования показали, что парентеральное введение АРУЦ пациентам в послеоперационном периоде (45% АРУЦ – лейцин:изолейцин:валин – 1:4:7) в течение 7-ми дней после операции повышало количество лимфоцитов в крови (на 225% выше, чем до операции и на 50% выше, чем в контрольной группе). Все пациенты были анергичны к внутрикожной пробе с туберкулином, что указывало на существенное изменение параметров клеточного иммунитета. Freund et al. [115] показали, что выжившие пациенты с сепсисом имели более высокие концентрации в плазме АРУЦ (в среднем 0,34 ммоль/л) по сравнению с пациентами, которые погибли от сепсиса (в среднем 0,232 ммоль/л). Это также может иметь отношение к состоянию иммунитета.

В последнее время АРУЦ широко назначают не только спортсменам, но и пациентам в постоперационном периоде, пациентам с сепсисом, у которых часто снижен уровень глутамина в мышцах и плазме. Показано, что даже в присутствии достаточных количеств глутамина в среде, клетки нуждаются в АРУЦ. Наиболее вероятно то, что незаменимость АРУЦ обусловлена их участием в биосинтезе белка. Иммунная система высокочувствительна к биосинтезу белков, поскольку для генерации иммунного ответа требуется образование новых клеток, синтез антител, иммуноглобулинов, цитокинов, цитокиновых рецепторов, белков острой фазы и т.д. Очевидно, что недостаточное поступление АРУЦ не позволяет оптимально выполнять данные действия, что приводит к нарушению иммунитета.

Провоспалительные цитокины существенно повышают протеолиз в мышечных тканях и одновременно стимулируют биосинтез белка в печени, как часть острофазного ответа, который включает синтез специализированных протеинов плазмы, называемых белками острой фазы. Провоспалительные цитокины также индуцируют активность ферментов окисления аминокислот, в частности, дегидрогеназный комплекс разветвленных кетокислот [355].

Ожоговые повреждения представляют специфическую метаболическую ситуацию, так как патофизиологические механизмы ее регуляции могут существенно отличаться от общепринятых положений. Например, Lang et al. [221] изучали влияние различных стрессовых ситуаций на экспрессию миостатина, отрицательного регулятора мышечной массы, участвующего в стимуляции потери мышечной массы в ответ на повреждение. мРНК миостатина повышалась в 3–4 раза в икроножной мышце при наличии 30%-ой площади ожога, тогда как ни введение эндотоксина, ни развитие экспериментального перитонита достоверно не изменяли уровень мРНК миостатина. Этот ответ блокировался антагонистами глюкокортикоидных рецепторов, но не ФНО-связывающим белком (TNFBR), который препятствовал действию данного цитокина. Ожоговая ситуация характеризуется выбросом в кровь самых разных анаболических факторов (инсулин, гормон роста, IGF-1, β -блокаторы и др). Следовательно, метаболические изменения при ожоговых повреждениях должны рассматриваться отдельно от других типов травм.

Исследования способности АРУЦ предупреждать потерю белка при ожогах не дали однозначного результата. Так, показано, что добавки АРУЦ в этих ситуациях не способствовали прибавке массы и положительному азотистому балансу [270]. В другой работе показано [273], что добавки АРУЦ способствовали накоплению гликогена и белка в печени, в скелетной мышце, а также уменьшали катаболизм белка (оцениваемый по экскреции 3-метилгистидина). Азотистый баланс при этом не изменялся. Тем не менее, добавки АРУЦ пациентам с ожогами снижали в моче индекс 3-метилгистидин/креатинин, что указывало на улучшение метаболизма белка. Положительные результаты также

были получены King и Power [206], где пациенты с ожогами получали рацион, обогащенный АРУЦ (31% АРУЦ, молярное соотношение Иле/Лей/Вал: 0,9/3,1/1,0) или аналогичное количество изолейцина и валина, а лейцин был заменен кетоизокапроновой кислотой. Эффект добавок, вероятно, обусловлен 2-кратным увеличением в плазме концентраций этих аминокислот.

Таким образом, незаменимость АРУЦ для иммунной системы определяется в первую очередь их участием в биосинтезе белка. Иммунная система в огромной степени зависит от скорости наработки белков для построения новых клеток, синтеза компонентов иммунного ответа (иммуноглобулинов, цитокинов, рецепторов, белков острой фазы и т.п.). Между тем, не только недостаточность одной из АРУЦ, но и их дисбаланс в биологических средах и компартментах оказывает негативное влияние и не позволяет поддерживать биосинтез белка на оптимальном уровне, что является одной из основных метаболических характеристик иммунодефицита.

ГЛАВА 11

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, СОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ

Одним из наиболее перспективных направлений в области разработок новых лекарственных средств, относящихся к препаратам метаболической терапии, является создание композиций на основе субстанций природного происхождения, для которых характерны практически полное отсутствие побочных эффектов, наличие высокого терапевтического индекса, возможность длительного приёма, эффективная коррекция метаболического дисбаланса и дисгомеостаза, а также модуляция действия других лекарственных соединений и/или предупреждение проявления их побочных эффектов. Метаболическая терапия подразумевает направленное воздействие на обмен веществ в клетках организма естественными медиаторами нервной и гуморальной регуляции, отдельными субстратами, обладающими сигнальной функцией, а также введением аналогов субстратов-нутриентов. Клиническая фармакология доказала, что именно за этими препаратами будущее т.н. «метаболической терапии» болезней цивилизации, сопровождающихся окислительным стрессом и воспалительным компонентом, митохондриальных болезней, нейродегенеративных поражений и, конечно же, врожденных нарушений обмена веществ. Дисметаболизм определяет общую направленность биохимических процессов в организме и приводит к изменениям функций всех органов и систем. Очевидно, что его коррекция и профилактика, составляет все более важную часть в современных схемах комплексного лечения и реабилитации пациентов. Препараты метаболического действия предлагаются в качестве средств, замедляющих процессы старения и улучшающих качество жизни.

Метаболитные препараты – многочисленная группа разнообразных лекарственных средств, действие которых основано на нормализации метаболических процессов, нарушенных при патологических состояниях. Они могут быть средством заместительной, регулирующей и модулирующей

терапии, применяться с профилактической и лечебной целью. Среди них преобладают средства направленного действия (гепато-, нейро-, кардио-, иммунопротекторы), хотя их свойства как биологических регуляторов позволяют им влиять на более широкий спектр гомеостатических механизмов, обеспечивая метаболическую адаптацию и восстановление нарушенных функций.

Наиболее перспективные подходы к изысканию эффективных средств метаболитной (метаболической) терапии основаны на изучении естественных адаптационных процессов и их взаимоотношений со специализированными системами регуляции. Одним из основных условий отнесения препарата к этой группе – наличие подобного соединения (соединений) в организме живых существ или растений. Важнейшее из условий – отсутствие токсического действия при введении в макроорганизм в физиологических концентрациях.

Современная классификация препаратов метаболического типа действия, основанная на их биохимических свойствах, отражает важность выбора метаболических мишеней для стимуляции реакций адаптации и регенерации. Широким метаболическим эффектом обладают витаминные, гормональные и ферментные препараты, считающиеся классическими адаптогенами.

В настоящее время получены физико-химические, биохимические и фармакологические доказательства наличия в структуре метаболитных препаратов электрофильных и нуклеофильных групп, позволяющие им взаимодействовать с широким кругом белковых молекул путем связывания с аминокислотными остатками, локализованными в непосредственной близости к активному центру, либо с сайтами, предопределяющими формирование конформации молекулярных структур, а также с липидными компонентами плазматических мембран, обеспечивая модуляцию ионных каналов. Целый ряд природных биорегуляторов участвует в процессах эпигенетического регулирования функций генома и процессах пост-трансляционной модификации мРНК.

В основе подавляющего числа патологических процессов лежат универсальные механизмы, способствующие гибели

клетки. Одним из таких механизмов является активация образования свободных радикалов. Связь антиоксидантного действия метаболитных препаратов с торможением клеточного окислительного стресса хорошо известна, хотя в каждом отдельном случае механизмы могут принципиально отличаться.

Как правило, основное внимание при разработке средств метаболической терапии уделяется относительно немногочисленной группе соединений – аминокислотам с разветвленной углеродной цепью (валин, изолейцин, лейцин), а также аргинину, глицину, таурину и триптофану. В дополнение к этой группе соединений часто используют катионы магния и цинка, отдельные витамины (тиамин, никотиновая кислота, производные пантотеновой кислоты) [4-7, 15].

В настоящее время существует достаточно много композиций, содержащих АРУЦ, предназначенных как для парентерального, так и внутреннего применения. Показания к применению подобных лекарственных средств могут несколько различаться, в зависимости от состава, дозировки и длительности приема.

Лейцин (таблетка) – применяется в качестве корректора метаболизма и стимулятора биосинтеза белка у пациентов с отрицательным азотистым балансом, стимулирует функциональную активность иммунной системы. Дополнительное поступление в организм лейцина оптимизирует обмен веществ в предоперационном и послеоперационном периодах, оказывает протекторное действие при проведении полихимиотерапии.

Клинические испытания лекарственного препарата “Лейцин” в качестве иммуномодулятора и иммунокорректора при специальном лечении онкологических больных были проведены под руководством проф. Л.И.Нефедова и проф. К.Н.Угляницы. Выявлена хорошая переносимость препарата, а также отсутствие побочных эффектов, аллергических и токсических реакций: ни в одном из наблюдений не зарегистрировано побочных проявлений, аллергических и токсических реакций на испытуемый препарат. На основании субъективных данных и результатов общеклинических и биохимических исследований можно сделать вывод о хорошей переносимости лекарственного

препарата “Лейцин”. Лейцин в целом оказывал нормализующий эффект на неспецифические, свойственные катаболической фазе, показатели гомеостаза. Включение препарата “Лейцин» в предоперационную медикаментозную подготовку больных, использование его при проведении полихимиотерапии ведёт к уменьшению проявлений вторичного иммунодефицита. Лейцин проявляет отчетливый иммуномодулирующий эффект, манифестируемый как в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, что проявлялось нормализацией показателей клеточного иммунитета, устранением дисфункции гуморального иммунитета, а также повышением неспецифической резистентности организма.

Препарат оказывает коррегирующее действие на формирующийся при онкопатологии в физиологических жидкостях, неизменённой и опухолевой тканях аминокислотный дисбаланс, активирует процессы биосинтеза серосодержащих аминокислот, их предшественников и метаболитов, оказывая антиоксидантное и гепатопротекторное действие. При большинстве видов онкопатологии выявлено коррегирующее действие L-лейцина на аминокислотный дисбаланс, антитоксическую функцию печени, а также активирующее действие на процессы биосинтеза серосодержащих аминокислот и родственных соединений с выраженным антиоксидантным и гепатопротекторным действием. Отмечено снижение частоты послеоперационных осложнений инфекционного генеза и сокращение сроков стационарного лечения онкологических больных, получавших исследуемый лекарственный препарат. При использовании препарата в ходе лечения онкологических больных достигается отчётливый экономический эффект за счёт уменьшения количества послеоперационных осложнений и неблагоприятных побочных реакций, наблюдаемых при проведении химиолучевой терапии, а также сокращения сроков стационарного лечения [86, 87].

Лейаргунал – предназначен для приема внутрь. Содержит лейцин, аргинина гидрохлорид и инозин. Оказывает иммуностимулирующее, иммуномодулирующее, адаптогенное и анаболическое действие. За счет сочетания лейцина с аргинином препарат стимулирует гуморальный иммунитет, обеспечивая

повышение неспецифической резистентности организма и устойчивости к инфекционным агентам. Одновременно большое количество лейцина в препарате способствует активации биосинтетических процессов, особенно при сочетании с анаболическими стероидами.

Тавамин – кроме АРУЦ содержит таурин. Данная композиция стабилизирует обмен серосодержащих и ароматических аминокислот, оказывает положительное влияние на аминокислотно-белковый обмен при поражениях печени различной этиологии. Оказывает выраженное антистрессовое действие при состояниях сопровождающихся гиперметаболизмом. Включение в состав композиции таурина благоприятно влияет на конъюгацию желчных кислот, оказывает антиоксидантный и нейропротекторный эффекты. Многократно показан благоприятный эффект тавамина при острой и хронической алкогольной интоксикации. Показаниями к применению тавамина являются токсические поражения печени (в составе комплексной терапии), гепатит различной этиологии и печеночная энцефалопатия.

Доказана эффективность аминокислотной композиции Тавамин в нормализации спектра свободных аминокислот в сыворотке крови и ткани печени, а также аминокислот и биогенных аминов в гипоталамусе, стриатуме и стволе мозга крыс после форсированной алкогольной интоксикации. Тавамин, вводимый в виде 2,5% водного раствора внутривентрикулярно в суммарной суточной дозе 200 мг/кг животным в период форсированной алкоголизации (этанол внутривентрикулярно через 12 ч в дозе 5 г/кг на протяжении 7 суток) повышал в плазме крови уровни таурина и глутамата, снижал концентрации треонина и глицина. После курсового введения Тавамина на фоне форсированной алкоголизации в печени уменьшается общее количество свободных аминокислот, главным образом вследствие снижения содержания цистеиновой кислоты, аспартата, глутамина, аланина, орнитина и незаменимых аминокислот треонина, фенилаланина, лизина и гистидина.

Форсированная алкоголизация приводила к дисбалансу возбуждающих и тормозных нейроактивных аминокислот в отделах мозга, но у животных получавших Тавамин, уровни

таурина, возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот в гипоталамусе, а также концентрации биогенных аминов в стриатуме и стволе мозга существенно не отличались от контрольных значений. Кроме того, введение Тавамина повышало содержание серотонина в стволе мозга. Одновременно, в гипоталамусе назначение тавамина не влияло на повышенные уровни дофамина и серотонина [10-13].

Таким образом, аминокислотная композиция, содержащая АРУЦ и таурин (Тавамин), обладает определенным протективным потенциалом при форсированной алкоголизации. Вероятно, в значительной степени ее эффект реализуется на уровне отделов головного мозга и, возможно, сопряжен с общим увеличением утилизации аминокислот для биосинтетических целей. Отрицательным моментом использования тавамина, по-видимому, является сохраняющийся повышенный уровень дофамина, который, как указывалось выше, считается нейротоксическим соединением.

Валикар – помимо АРУЦ содержит N-ацетилглутамин и карнитина хлорид. Валикар обладает антистрессовым эффектом и стимулирует анаболические процессы в организме. Прием композиции улучшает метаболизм в мышечных тканях, способствует активации окисления жирных кислот, препятствует прогрессированию ацидоза, что в совокупности приводит к повышению физической выносливости. Препарат назначают с целью ускорения процессов реабилитации в послеоперационном периоде, после тяжелых инфекционных заболеваний, а также для профилактики тяжелых стресс-реакций. Как правило, валикар используется в составе комплексной терапии.

Гепавил – выпускается в форме раствора для парентерального использования. Содержит смесь АРУЦ в 10% растворе глюкозы. Оказывает выраженный анаболический эффект. Стимулирует биосинтез белка в скелетных мышцах. Обычно используется для быстрой коррекции отрицательного азотистого баланса и лечения печеночной энцефалопатии. Может быть использован для купирования неврологических симптомов у больных фенилкетонурией.

Широко применяется при парентеральном питании больных с нарушением функции печени в сочетании с мальнутрицией,

независимо от наличия признаков печеночной энцефалопатии. Между тем парентеральное введение АРУЦ противопоказано при остром гепатите. Наличие в препарате глюкозы не позволяет использовать гепавил у больных сахарным диабетом.

Гепавилаг – выпускается в форме гранул, из которых приготавливают раствор для питья. Препарат кроме АРУЦ содержит аргинин и дипептид глицилглицин. Подобная комбинация аминокислот позволяет использовать препарат по широкому спектру показаний, включая заболевания печени, состояния, сопровождающиеся окислительным стрессом, иммунодефицитом. Отдельным направлением является применение гепавилага для стимуляции биосинтеза белка. Высокая концентрация аминокислот в препарате предполагает невозможность его назначения пациентам с почечной недостаточностью, особенно при наличии уремии.

В заключение, необходимо подчеркнуть, что при наибольший терапевтический эффект вышеперечисленных аминокислотных композиций, вероятно, обусловлен присутствием лейцина, основного модулятора синтеза белка и соединения, оказывающего инсулиноподобное действие [17]. Присутствие дополнительных компонентов как аминокислотной, так и иной природы, усиливает метаболическое действие АРУЦ во многом вследствие уменьшения окислительного стресса и стимуляции функции клеток иммунной системы. Следует заметить, что содержащие АРУЦ препараты, наиболее эффективны для стабилизации и улучшения метаболизма в печени, но оказывают благоприятное действие на обмен веществ в мышечных тканях и органах иммунной системы. Использование АРУЦ предполагает и возможность центрального воздействия, вследствие конкуренции этих аминокислот за перенос через плазматические мембраны и гематоэнцефалический барьер ароматических аминокислот (предшественников нейротрансмиттеров), что приводит к изменению уровней нейротрансмиттерных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга. Это предполагает возможность применения АРУЦ в комплексном лечении врожденных нарушений метаболизма, в том числе и при фенилкетонурии, с целью уменьшения поступления в ЦНС ароматических аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Браунштейна А.Е. Обмен аминокислот. – Тбилиси, 1967. – 251с.
2. Горецкая М.В., Шейбак В.М. Иммуногепатология: роль печени в иммунной системе. – Москва: Пальмир, 2010. – 256 с.
3. Горецкая М.В., Шейбак В.М. Аминокислоты и иммунная система // Медицинские знания. – 2012. – № 3. – С. 14–15.
4. Козловский А.В., Лелевич В.В., Винницкая А.Г. и др. Аминокислоты и их производные в коррекции метаболических нарушений при наркологических заболеваниях // Медицинские новости – 2004. – № 7. – С. 27–34.
 - 4а. Курбат Н.М., Нефёдов Л.И., Куваева З.И., Курбат М.Н. Аминокислота лейцин и её производные: фармакологические свойства и применение // Весці АН Беларусі. - 1997.- № 5. С. 35-40.
5. Лелевич В.В., Шейбак В.М., Максимчук В.П. и др. Метаболическая терапия при алкоголизме // Медицинские новости – 2001. – № 2. – С. 12–16.
6. Лелевич С.В. Винницкая А.Г. Лелевич В.В. и др. Метаболическая коррекция алкогольной интоксикации – Гродно, ГрГМУ, 2013. – 176 с.
7. Моисеенок А.Г., Копелевич В.М., Шейбак В.М., Гуринович В.А. Производные пантотеновой кислоты. Разработка новых витаминных и фармакотерапевтических средств. – Минск: Наука и техника, 1989. – 216 с.
8. Нефёдов Л.И. Моисеенок А.Г. Мороз А.Р. и др. Содержание свободных аминокислот в печени крыс после парентерального введения КоА // Хим.-фарм. Журнал. – 1992. – № 4. – С. 31–35.
 - 8а. Нефёдов Л.И. Формирование фонда свободных аминокислот и их производных в условиях метаболического дисбаланса: Автореф. дис... д-ра мед. наук. Минск, 1993.
 - 8б. Нефёдов Л.И., Угляница К.Н., Солдатов В.С., Курбат Н.М. Механизмы регуляции метаболического баланса: результаты и перспективы применения аминокислот и их производных в качестве универсальных биологически активных природных регуляторов направленного действия и эффективных лекарственных препаратов // Весці АН Беларусі.- 1998.- N 4. С. 35–45.
 - 8в. Нефёдов Л.И. и др. Аминокислоты в патогенезе и лечении

поражений печени // Новости гепатологии, 1997, N, с. 2–9.

8г. Нефедов Л.И., Угляница К.Н. Отчет о клинических испытаниях (II фаза) нового лекарственного препарата «таблетки лейцина» при специальном лечении онкологических больных // Гродно, 1998. – 138 с.

9. Пархитко А.А., Фаворова О.О., Хабибуллин Д.И. и др. Киназа mTOR: регуляция, роль в поддержании клеточного гомеостаза, развитии опухолей и старении // Биохимия – 2014. – Т.79, № 2. – С. 128–143.

10. Разводовский Ю.Е. Смирнов В.Ю. Дорошенко Е.М. и др. Влияние тавамина и гепатила на фонд свободных аминокислот плазмы крови при синдроме отмены этанола // Вести Национальной Академии Наук Беларуси, Сер. Мед. Наук. – 2006. – № 1 – С. 49–51.

11. Разводовский Ю.Е., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М. и др. Влияние композиции, состоящей из триптофана, АРУЦ и таурина на фонд свободных аминокислот плазмы крови при алкогольной хронической интоксикации // Журнал ГрГМУ – 2007. – № 1. – С. 136–138.

12. Разводовский Ю., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М. и др. Влияние препаратов «Метовит» и «Тавамин» на фонд свободных аминокислот в тканях крыс при алкоголизации с последующей отменой этанола // Журнал ГрГМУ. – 2009. – № 1. – С. 31–34.

13. Смирнов В.Ю. Разводовский Ю. Дорошенко Е.М. и др. Влияние композиции АРУЦ и таурина на фонд свободных аминокислот плазмы крови при хронической алкогольной интоксикации // Журнал ГрГМУ – 2006. – №4. – С. 89–91.

14. Терехов Н.Т., Липкан Г.Н., Повстяной Н.Е. Парентеральное питание в хирургии – Киев, Здоровье, 1984. – 192 с.

15. Шейбак В.М. Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации. – Гродно, 1998. – 153 с.

16. Шейбак В.М. Регуляция и патофизиологическое значение метаболизма аминокислот с разветвленной углеводородной цепью // Здоровоохранение. — 1999. – №6. – С.25–27.

17. Шейбак В.М. Влияние Полиамин на структуру фонда свободных аминокислот плазмы крови и печени животных с хронической алкогольной интоксикацией // Эксп. и клин. фармакология. – 1998. – Т.61, №5. – С. 59–61.

18. Шейбак В.М. Регуляция внутриклеточной структуры

фонда КоА как один из подходов в коррекции метаболических нарушений // Вопросы медицинской химии – 1999. – Т.45, №2. – С. 97–104.

19. Шейбак В.М. Мацюк Я.Р. Жмакин А.И. Андреев В.П. Низкомолекулярные биорегуляторы: лейцин // Труды Гродн. Госмедуниверситета. – Гродно, 2003. – С. 68–70.

20. Шейбак В.М., Тис А.А., Шейбак Л.Н. Фагоцитарная активность нейтрофилов пуповинной крови новорожденных *in vitro* в присутствии лейцина // Эксп. и клин. Фармакология – 2005. – № 1. – С. 48–49.

21. Шейбак В.М., Горецкая М.В., Мацюк Я.Р. Влияние лейцина на показатели крови и морфо-функциональное состояние тимуса и селезенки животных // Иммунология, аллергология и инфектология – 2006. – № 1. – С. 14–17.

22. Шейбак В.М., Кравчук Р.И., Степура Т.Л. и др. Влияние лейцина на морфо-функциональное состояние печени животных // Проблемы здоровья и экологии – 2006. – Т.8, № 2. – С. 112–117.

23. Шейбак В.М., Смирнов В.Ю., Кравчук Р.И. и др. Композиция, состоящая из лейцина и цинка сульфата, уменьшает нарушения функции печени, вызванные введением ацетаминофена // Журнал ГрГМУ – 2006. – № 3. – С. 51–54.

24. Шейбак В.М., Смирнов В.Ю., Горецкая М.В. и др. Применение лейцина и цинка сульфата для коррекции нарушений метаболизма, вызванных парацетамолом // Эксп. и клиническая фармакология – 2007. – Т.70, № 3. – С. 40–42.

25. Шейбак В.М., Кравчук Р.И., Мацюк Я.Р. и др. Морфологические изменения в печени, тимусе, селезенке и тонком кишечнике животных после введения лейцина // Бюл. эксп. биол. и мед. – 2007. – № 2. – С. 231–235.

26. Шейбак В.М., Горецкая М.В., Виноградова Л.Е. Количественные и функциональные изменения лейкоцитов при введении таурина, лейцина и цинка сульфата // Иммунология, аллергология, инфектология – 2007. – № 2. – С. 22–27

27. Шейбак В.М., Горецкая М.В. Аминокислоты и иммунная система – Москва: Пальмир, 2010. – 356 с.

28. Alvestrand A., Furst P., Bergstrom J. Intra-cellular amino acids in uremia. // *Kidney Int Suppl.* – 1983. – Vol. 24. – P. 9–16.

29. Ambühl P.M. Protein intake in renal and hepatic disease // *Int J Vitam Nutr Res.* – 2011. – Vol.81, № 2. – P. 162–172.

30. Ament W., Verkerke G.J. Exercise and fatigue. // *Sports*

Med. – 2009. – Vol.39. – P. 389–422.

31. Andersen P., Saltin B. Maximal perfusion of skeletal muscle in man. // J Physiol. – 1985. – Vol. 366. – P. 233–249.

32. Anthony J.C., Anthony T.G., Kimball S.R. et al. Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation. // J Nutr. – 2000. – Vol. 130. – P. 139–145.

33. Aquilani R., Iadarola P., Contardi A. et al. Branched-chain amino acids enhance the cognitive recovery of patients with severe traumatic brain injury. // Arch Phys Med Rehabil. – 2005. – Vol. 86. – P. 1729–1735.

34. Aquilani R., Boselli M., Boschi F. et al. Branched-chain amino acids may improve recovery from a vegetative or minimally conscious state in patients with traumatic brain injury: a pilot study. // Arch Phys Med Rehabil. – 2008. – Vol.89. – P. 1642–1647.

35. Aquilani R., Zuccarelli G.C., Dioguardi F.S. et al. Effects of oral amino acid supplementation on long-term-care-acquired infections in elderly patients. // Arch Gerontol Geriatr. – 2011. – Vol.52. – P. 123–128.

36. Arakawa M., Masaki T., Nishimura J. et al. The effects of branched-chain amino acid granules on the accumulation of tissue triglycerides and uncoupling proteins in diet-induced obese mice. // Endocr. J. – 2011. – Vol. 58. – P. 161–170

37. Aschkenasy A. Prevention of the immunodepressive effects of excess dietary leucine by isoleucine and valine in the rat. // J Nutr. – 1979. – Vol. 109. – P. 1214–1222.

38. Avruch J., Long X., Ortiz-Vega S. et al. Amino acid regulation of TOR complex 1. // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2009. – Vol. 296. – P. 592–602.

39. Balagopal P., Rooyackers O.E., Adey D.B. et al. Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans. // Am J Physiol. – 1997. – Vol. 273. – P. 790–800.

40. Ballmer P.E., Walshe D., McNurlan M.A. et al. Albumin synthesis rates in cirrhosis: correlation with Child-Turcotte classification. // Hepatology. – 1993. – Vol. 18. – P. 292–297.

41. Banister E.W., Cameron B.J.C. Exercise-induced hyperammonemia: Peripheral and central effects. // Int. J. Sports Med. – 2006. – Vol. 11. – P. 129–142.

42. Baquet A., Lavoigne A., Hue L. Comparison of the effects of

various amino acids on glycogen synthesis, lipogenesis, and ketogenesis in isolated rat hepatocytes. // *Biochem J.* – 1991. – Vol. 273. – P. 57–62.

43. Baracos V.E. Regulation of skeletal-muscle-protein turnover in cancer-associated cachexia. // *Nutrition.* – 2000. – Vol. 16. – P. 1015–1018.

44. Baracos V.E., Mackenzie M. Investigations of branched-chain amino acids and their metabolites in animal models of cancer // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 237–242.

45. Barazzoni R., Short K.R., Nair K.S. Effects of aging on mitochondrial DNA copy number and cytochrome c oxidase gene expression in rat skeletal muscle, liver, and heart. // *J Biol Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 3343–3347.

46. Bassil M.S., Gougeon R. Muscle protein anabolism in type 2 diabetes. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* – 2013. – Vol. 10, № 1. – P. 83–88.

47. Bassit R.A., Sawada L.A., Bacurau R.F. et al. Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes // *Nutrition* – 2002. – Vol. 18. – P. 376–379.

48. Baum J.I., Layman D.K., Freund G.G. et al. A reduced carbohydrate, increased protein diet stabilizes glycemic control and minimizes adipose tissue glucose disposal in rats. // *J Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 1855–1861.

49. Beaufrere B., Tessari P., Cattalini M. et al. Apparent decreased oxidation and turnover of leucine during infusion of medium-chain triglycerides. // *Am J Physiol.* – 1985. – Vol. 249. – P. 175–182.

50. Bednarek-Skublewska A., Swatowski A., Wawrzycki S. et al. Concentrations of branched amino acids: isoleucine, valine, leucine in serum of hemodialysis patients during one-year observation // *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med.* – 2002. – Vol. 57, № 2. – P. 322–329.

51. Bergstrom J., Furst P., Noree L.O. et al. Intracellular free amino acid concentration in human muscle tissue. // *J Appl Physiol.* – 1974. – Vol. 36. – P. 693–697.

52. Bergstrom J. Mechanisms of uremic suppression of appetite. // *J Renal Nutr.* – 1999. – Vol. 9. – P. 129–132

53. Bernard J.R., Liao Y.H., Hara D. et al. An amino acid mixture improves glucose tolerance and insulin signaling in Sprague-Dawley rats. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2011. – Vol. 300. – P. 752–760.

54. Biolo G., Tipton K.D., Klein S. et al. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein.

// Am J Physiol. – 1997. – Vol. 273. – P. 122–129.

55. Block K.P., Aftring R.P., Buse M.G. Regulation of rat liver branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity by meal frequency and dietary protein. // J Nutr. – 1990. – Vol. 120. – P. 793–799.

56. Blomstrand E, Celsing F, Newsholme EA. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. // Acta Physiol Scand. – 1988. – Vol. 133. – P. 115–21.

57. Blomstrand E., Perrett D., Parry-Billings M. et al. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. // Acta Physiol Scand. – 1989. – Vol. 136. – P. 473–481.

58. Blomstrand E., Hassmen P., Ekblom B. et al. Administration of branched-chain amino acids during sustained exercise—effects on performance and on plasma concentration of some amino acids. // Eur J Appl Physiol. – 1991. – Vol. 63, № 2. – P. 83–88.

59. Blomstrand E., Hassmen P., Ek S. et al. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise // Acta. Physiol. Scand. – 1997. – Vol. 159. – P. 41–49.

60. Blomstrand E. A Role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136 – P. 544–547.

61. Blonde-Cynober F., Plassart F., Rey C. et al. Assessment of the carbon tetrachloride-induced cirrhosis model for studies of nitrogen metabolism in chronic liver disease. // Ann Nutr Metab. – 1994. – Vol. 38. – P. 238–248.

62. Boirie Y., Albright R., Bigelow M. et al. Impairment of phenylalanine conversion to tyrosine in end-stage renal disease causing tyrosine deficiency. // Kidney Int. – 2004. – Vol. 66. – P. 591–596.

63. Bolasco P., Caria S., Cupisti A. et al. A novel amino acids oral supplementation in hemodialysis patients: A pilot study. // Ren Fail. – 2011. – Vol. 33. – P. 1–5.

64. Boldizar H.K., Boorman K.N., Buttery P.J. The effect of excess leucine on valine catabolism in the chick. // Br J Nutr. – 1973. – Vol. 30. – P. 501–510.

65. Borrelli S., De Nicola L., Sogliocca A. et al. Amino acid loss during dialysis treatment // G Ital Nefrol. – 2011 – Vol. 28, № 1. – P. 26–31.

66. Bossola M., Tazza L., Luciani G. Mechanisms and treatment

of anorexia in end-stage renal disease patients on hemodialysis. // J Ren Nutr – 2009. – Vol. 19. – P. 2–9.

67. Brosnan J.T., Brosnan M.E. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 207–211.

68. Burns C.P. Isoleucine metabolism by leukemic and normal human leukocytes in relation to cell maturity and type. // Blood. – 1975. – Vol. 45. – P. 643–651.

69. Butterworth R.F. Complications of cirrhosis III. Hepatic encephalopathy. // J Hepatol. – 2000. – Vol. 32. – P. 171–180.

70. Buxton D.B., Barron L.L., Taylor M.K. et al. Regulatory effects of fatty acids on decarboxylation of leucine and 4-methyl-2-exopentanoate in the perfused rat heart. // Biochem J. – 1984. – Vol. 221. – P. 93–599.

71. Calbet J.L., Holst J.J. Gastric emptying, gastric secretion and enterogastrone response after administration of milk proteins or their peptide hydrolysates in humans. // Eur J Nutr. – 2004. – Vol. 10, № 3. – P. 127–139.

72. Calder P.C. Branched-chain amino acids and immunity // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 288–293.

73. Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. // Cell. – 2005. – Vol. 120. – P. 513–522.

74. Cangiano C., Laviano A., Meguid M.M. et al. Effects of administration of oral branched-chain amino acids on anorexia and caloric intake in cancer patients. // J Natl Cancer Inst. – 1996. – Vol. 88. – P. 550–552.

75. Cano N. J. M., Fouque D., Leverve X.M. Application of branched-chain amino acids in human pathological states: renal failure // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 299–307.

76. Carr S.J., Layward E., Bevington A. et al. Plasma amino acid profile in the elderly with increasing uraemia. // Nephron. – 1994. – Vol. 66. – P. 228–230.

77. Castell L.M., Yamamoto T., Phoenix J. et al. The role of tryptophan in fatigue in different conditions of stress. // Adv Exp Med Biol. – 1999. – Vol. 467. – P. 697–704

78. Chang T.W., Goldberg A.L. Leucine inhibits oxidation of glucose and pyruvate in skeletal muscle during fasting. // J Biol Chem. – 1978. – Vol. 253. – P. 3696–36701.

79. Chaouloff F. Effects of acute physical exercise on central

serotonergic systems. // Med Sci Sports Exerc. – 1997. – Vol. 29. – P. 58–62.

80. Charlton M.R. Protein metabolism and liver disease. // Baillieres Clin Endocrinol Metab. – 1996. – Vol. 10. – P. 617–635.

81. Charlton M. Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 295–298.

82. Chevalier P, Aschkenasy A. Hematological and immunological effects of excess dietary leucine in the young rat. // Am J Clin Nutr. – 1977. – Vol. 30. – P. 1645–1654.

83. Chin S.E., Shepherd R.W., Thomas B.J. et al. Nutritional support in children with end-stage liver disease: a randomized crossover trial of a branched-chain amino acid supplement. // Am J Clin Nutr. – 1992. – Vol. 56. – P. 158–163.

84. Chotechuan N., Azzout-Marniche D., Bos C. et al. mTOR, AMPK, and GCN2 coordinate the adaptation of hepatic energy metabolic pathways in response to protein intake in the rat. // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2009. – Vol. 297. – P. 1313–1323.

85. Choudry H.A., Pan M., Karinch A.M. et al. Branched-chain amino acid-enriched nutritional support in surgical and cancer patients. // J Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 314–318.

86. Chua B., Siehl D.L., Morgan H.E. Effect of leucine and metabolites of branched chain amino acids on protein turnover in heart. // J Biol Chem. – 1979. – Vol. 254. – P. 8358–8362.

87. Chuang J.C., Yu C.L., Wang S.R. Modulation of human lymphocyte proliferation by amino acids. // Clin Exp Immunology. – 1990. – Vol. 81. – P. 173–176.

88. Chuang DT. Maple syrup urine disease: it has come a long way. // J Pediatr. – 1998. – Vol. 132. – P. 17–23.

89. Clayton P.E., Banerjee I., Murray P.G. et al. Growth hormone, the insulin-like growth factor axis, insulin and cancer risk. // Nat. Rev. Endocrinol. – 2011. – Vol. 7. – P. 11–24.

90. Contrusciere V., Paradisi S., Matteucci A. et al. Branched-chain amino acids induce neurotoxicity in rat cortical cultures // Neurotox. Res. – 2010. – Vol. 17. – P. 392–398.

91. Copeland KC, Nair KS. Acute growth hormone effects on amino acid and lipid metabolism. // J Clin Endocrinol Metab. – 1994. – Vol. 78. – P. 1040–1047.

92. Corsetti G, Stacchiotti A, D'Antona G et al. Supplementation with essential amino acids in middle age maintains the health of rat

kidney. // *Int J Immunopathol Pharmacol.* – 2010. – Vol. 23. – P. 523–533.

93. Corsetti G, D'Antona G, Dioguardi FS et al. Topical application of dressing with amino acids improves cutaneous wound healing in aged rats. *Acta Histochem.* – 2010. – Vol. 112. – P. 497–507.

94. Cota D., Proulx K., Smith K.A. et al. Hypothalamic mtor signaling regulates food intake. // *Science.* – 2006. – Vol. 312. – P. 927–930.

95. Crowe M.J., Weatherson J.N., Bowden B.F. Effects of dietary leucine supplementation on exercise performance. // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2006. – Vol. 97. – P. 664–672.

96. Crozier S.J., Kimball S.R., Emmert S.W. et al. Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. // *J Nutr.* – 2005. – Vol. 135. – P. 376–382.

97. Cunningham J.T., Rodgers J.T., Arlow D.H. et al. mTOR controls mitochondrial oxidative function through YY1-PGC-1 α transcriptional complex. // *Nature.* – 2007. – Vol. 450. – P. 736–740.

98. Curzon G., Friedel J., Knott P.J. The effect of fatty acids on the binding of tryptophan to plasma protein // *Nature.* – 1973. – Vol. 242. – P. 198–200.

99. Cuthbertson D., Smith K., Babraj J. et al. Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19. – P. 422–424.

100. Cynober L., Dinh F.N., Blonde F. et al. Plasma and urinary amino acid pattern in severe burn patients-evolution throughout the healing period. // *Am J Clin Nutr.* – 1982. – Vol. 36. – P. 416–425.

101. Escobar J., Frank J.W., Suryawan A. et al. Regulation of cardiac and skeletal muscle protein synthesis by individual branched-chain amino acids in neonatal pigs. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2006. – Vol. 290. – P. 612–621.

102. Fabbri A., Magrini N., Bianchi G. et al. Overview of randomized clinical trials of oral branched-chain amino acid treatment in chronic hepatic encephalopathy. // *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* – 1996. – Vol. 20. – P. 159–164.

103. Falavigna G., de Araújo J.A., Rogero M.M. et al. Effects of Diets Supplemented with Branched-Chain Amino Acids on the Performance and Fatigue Mechanisms of Rats Submitted to Prolonged Physical Exercise // *Nutrients* – 2012. – Vol. 4, № 11. – P. 1767–1780.

104. Feldstein A.E., Werneburg N.W., Canbay A. et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression

via a lysosomal pathway. // *Hepatology*. – 2004. – Vol. 40. – P. 185–194.

105. Felig P., Marliss E., Cahill G.F. et al. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. // *N Engl J Med*. – 1969. – Vol. 281. – P. 811–816.

106. Felig P., Marliss E., Cahill G.F. Are plasma amino acid levels elevated in obesity? // *N Engl J Med*. – 1970. – Vol. 282. – P. 166.

107. Fernstrom J.D. Branched-chain amino acids and brain function. // *J Nutr*. – 2005. – Vol. 135. – P. 1539–1546.

108. Fernstrom J.D., Fernstrom M.H. Exercise, serum free tryptophan, and central fatigue. – *J. Nutr*. – 2006. – Vol. 136. – P. 553–559.

109. Ferrannini E., Barrett E.J., Bevilacqua S. et al. Effect of fatty acids on blood amino acid levels in humans. // *Am J Physiol Endocrinol Metab* – 1986. – Vol. 250. – P. 686–694.

110. Fischer J.E., Baldessarini R.J. False neurotransmitters and hepatic failure. // *Lancet*. – 1971. – Vol. 2. – P. 75–80.

111. Flakoll P.J., Borel M.J., Wentzel L.S. et al. The role of glucagon in the control of protein and amino acid metabolism in vivo. // *Metabolism*. – 1994. – Vol. 43. – P. 1509–1516.

112. Fliser D., Zeier M., Nowack R. et al. Renal functional reserve in healthy elderly subjects. // *J Am Soc Nephrol*. – 1993. – Vol. 3. – P. 1371–1377.

113. Floyd J.C., Fajans S.S., Conn J.W. et al. Stimulation of insulin secretion by amino acids. // *J. Clin. Invest*. – 1966. – Vol. 45. – P. 1487–1502.

114. Fouin-Fortunet H., Besnier M.O., Colin R. et al. Effects of ketoacids on liver glutathione and microsomal enzymes in malnourished rats. // *Kidney Int Suppl*. – 1989. – Vol. 27. – P. 222–226.

115. Freund H.R., Ryan J.A., Fisher J.E. Amino acid derangements in patients with sepsis: treatment with branched chain amino acid rich infusions. // *Ann Surg*. – 1978. – Vol. 188. – P. 423–430.

116. Fujita S., Volpi E. Amino acids and muscle loss with aging // *J. Nutr*. – 2006. – Vol. 136. – P. 277–280.

117. Fujita S., Dreyer H.C., Drummond M.J. et al. Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis. // *J. Physiol*. – 2007. – Vol. 582. – P. 813–823.

118. Fürst P. Amino acid metabolism in uremia. // *J Am Coll Nutr* – 1989. – Vol. 8. – P. 310–323.

119. D'Antona G., Ragni M., Cardile A. et al. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. // *Cell Metab.* – 2010. – Vol. 12. – P. 362–372.

120. Dal Negro R.W., Aquilani R., Bertacco S. et al. Comprehensive effects of supplemented essential amino acids in patients with severe copd and sarcopenia. // *Monaldi Arch Chest Dis.* – 2010. – Vol. 73. – P. 25–33.

121. Dardevet D., Sornet C., Balage M. et al. Stimulation of in vitro rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age. // *J Nutr.* – 2000. – Vol.130. – P.2630–2635.

122. Davis J.M., Welsh R.S., de Volve K.L. et al. Effects of branched-chain amino acids and carbohydrate in fatigue during intermittent, high-intensity running. // *Int. J. Sports Med.* – 1999. – Vol. 20. – P. 309–314.

123. De Bandt J.P., Cynober L. Therapeutic use of branched-chain amino acids in burn, trauma, and sepsis. // *J Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 308–313.

124. De Bie I., Nizard S.D., Mitchell G.A. Fetal dilated cardiomyopathy: an unsuspected presentation of methylmalonic aciduria and hyperhomocystinuria, cblC type. // *Prenat Diagn.* – 2009. – Vol. 29. – P. 266–270.

125. Deferrari G., Garibotto G., Robaudo C. et al. Brain metabolism of amino acids and ammonia in patients with chronic renal insufficiency. // *Kidney Int.* – 1981. – Vol. 20. – P. 505–510.

126. Dejong C.H.C., Meijerink WJ.HJ., van Berlo C.L.H. et al. Decreased plasma isoleucine concentrations after upper gastrointestinal haemorrhage in humans. // *Gut.* – 1996. – Vol.39. – P. 13–17.

127. Dejong C., Poll M., Soeters P. et al. Aromatic amino acid metabolism during liver failure // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1579–1585.

128. Denne S.C., Litchely E.A., Liu Y.M. et al. Proteolysis in skeletal muscle and whole body in response to euglycemic hyperinsulinemia in normal adults. // *Am J Physiol.* – 1991. – Vol. 261. – P. 809–814.

129. Dokken B.B., Saengsirisuwan V., Kim J.S. et al. Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle: role of glycogen synthase kinase-3. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2008. – Vol. 294. – P. 615–621.

130. Donato J.J., Pedrosa R.G., Cruzat V.F. et al. Effects of

leucine supplementation on the body composition and protein status of rats submitted to food restriction. // *Nutrition*. – 2006. – Vol. 22. – P. 520–527.

131. Gamrin L., Andersson K., Hultman E. et al. Longitudinal changes of biochemical parameters in muscle during critical illness. // *Metabolism*. – 1997. – Vol. 46. – P. 756–762.

132. Garibotto G., Sofia A., Canepa A. et al. Acute effects of peritoneal dialysis with dialysates containing dextrose or dextrose and amino acids on muscle protein turnover in patients with chronic renal failure // *J Am Soc Nephrol*. – 2001. – Vol. 12, № 3. – P. 557–567.

133. Gerrits G.P., Kamphuis S., Monnens L.A. et al. Cerebrospinal fluid levels of amino acids in infants and young children with chronic renal failure. // *Neuropediatrics*. – 1998. – Vol. 29. – P. 35–39.

134. Giordano M., Castellino P., Carroll C.A. et al. Comparison of the effects of human recombinant insulin-like growth factor I and insulin on plasma amino acid concentrations and leucine kinetics in humans. // *Diabetologia*. – 1995. – Vol. 38. – P. 732–738.

135. Gleeson M. Interrelationship between physical activity and branched-chain amino acids // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135. – P. 1591–1595.

136. Gluud L.L., Dam G., Borre M. et al. Oral branched-chain amino acids have a beneficial effect on manifestations of hepatic encephalopathy in a systematic review with meta-analyses of randomized controlled trials. // *J Nutr.* – 2013. – Vol. 143. – P. 1263–1268.

137. Gluud L.L., Dam G., Borre M. et al. Lactulose, rifaximin or branched chain amino acids for hepatic encephalopathy: what is the evidence? // *Metab Brain Dis.* – 2013. – Vol. 28. – P. 221–225.

138. Gomes-Marcondes M.C., Ventucci G., Toleda M.T. et al. Leucine-supplemented diet improved protein content of skeletal muscle in young tumor bearing rats. // *Braz J Med Biol Res.* – 2003. – Vol. 36. – P. 1589–1594.

139. Gomez-Merino D., Berthelot M., Riverain S. et al. Evidence that the branched-chain amino acid L-valine prevents exercise-induced release of 5-HT in rat hippocampus // *Int J Sports Med.* – 2001. – Vol. 22. – P. 317–322

140. Gonzalez G.G., Byus C.V. Effect of dietary arginine restriction upon ornithine and polyamine metabolism during two-stage epidermal carcinogenesis in the mouse. // *Cancer Res.* – 1991. – Vol. 51.

– P. 2932–2939.

141. Gordon-Elliott J.S., Margolese H.C. Weight loss during prolonged branched-chain amino acid treatment for tardive dyskinesia in a patient with schizophrenia. // *Aust N Z J Psychiatry*. – 2006. – Vol. 40. – P. 195.

142. Grecos G.P., Abbott W.C., Schiller W.R. et al. The effect of major thermal injury and carbohydrate-free intake on serum triglycerides, insulin, and 3-methylhistidine excretion. // *Ann Surg*. – 1984. – Vol. 200. – P. 632–637.

143. Greiber S., Mitch W.E. Mechanisms for protein catabolism in uremia: metabolic acidosis and activation of proteolytic pathways // *Miner Electrolyte Metab*. – 1992. – Vol. 18, № 2. – P. 233–236.

144. Griggs R.C., Kingston W., Jozefowicz R.F. et al. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. // *J Appl Physiol*. – 1989. – Vol. 66. – P. 498–503.

145. Grimble R.F. Nutritional modulation of immune function. // *Proc Nutr Soc*. – 2001. – Vol. 60. – P. 389–397.

146. Guarente L. Mitochondria - a nexus for aging, calorie restriction, and sirtuins? // *Cell*. – 2008. – Vol. 132. – P. 171–176.

147. Guertl B., Noehammer C., Hoefler G. Metabolic cardiomyopathies. // *Int J Exp Pathol*. – 2000. – Vol. 81. – P. 349–372.

148. Habu D., Nishiguchi S., Nakatani S. et al. Comparison of the effect of BCAA granules on between decompensated and compensated cirrhosis. // *Hepatogastroenterology*. – 2009. – Vol. 56. – P. 1719–1723.

149. Hagiwara A., Nishiyama M., Ishizaki S. Branched-chain amino acids prevent insulin-induced hepatic tumor cell proliferation by inducing apoptosis through mTORC1 and mTORC2-dependent mechanisms. // *J. Cell. Physiol*. – 2012. – Vol. 227. – P. 2097–20105.

150. Hallows W.C., Yu W., Smith B.C. et al. SIRT3 promotes the urea cycle and fatty acid oxidation during dietary restriction. // *Mol Cell*. – 2011. – Vol. 41. – P. 139–149.

151. Haran P.H., Rivas D.A., Fielding R.A. Role and potential mechanisms of anabolic resistance in sarcopenia. // *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*. – 2012. – Vol.3. – P.157–162.

152. Hargreaves K.M., Pardridge W.M. Neutral amino acid transport at the human blood-brain barrier. // *J Biol Chem*. – 1988. – Vol. 263. – P. 19392–19397.

153. Harris R.A., Zhang B., Goodwin G.W. et al. Regulation of the branched-chain α -ketoacid dehydrogenase and elucidation of a molecular basis for maple syrup urine disease. // *Adv Enzyme Regul*. –

1990. – Vol. 30. – P. 245–263.

154. Harris R.A., Kobayashi R., Murakami T. et al. Regulation of branched-chain α -keto acid dehydrogenase kinase expression in rat liver // J. Nutr. – 2001. – Vol.131, № 3. – P.841–845.

155. Harris R.A., Joshi M., Jeoung N.H. Mechanisms responsible for regulation of branched-chain amino acid catabolism. // Biochem Biophys Res Commun. – 2004 – Vol. 313. – P. 391–396.

156. Harris R.A., Joshi M., Jeoung N.H. et al. Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism //J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 207–211.

157. Hassmen P., Blomstrand E., Ekblom B. et al. Branched-chain amino acid supplementation during 30-km competitive run: mood and cognitive performance. // Nutrition. – 1994. – Vol. 10. – P. 405–410.

158. Hawgood S., Derrick M., Poulain F. Structure and properties of surfactant protein B. // Biochim Biophys Acta. – 1998. – Vol.1408. – P.150–160.

159. Hawkins R.A., O'Kane R.L., Simpson I.A. et al. Structure of the blood–brain barrier and its role in the transport of amino acids //J. Nutr. – 2006. – Vol.136. – P.218–226.

160. Herman M.A., Peroni O.D., Kahn B.B. Adipose-specific overexpression of Glut-4 causes hypoglycemia by altering branched chain amino acid metabolism. // Diabetes. – 2006 – Vol. 55. – P. 311.

161. Heys S.D., Park K.G.M., McNurlan M.A. et al. Stimulation of protein synthesis in human tumours by parenteral nutrition: evidence for modulation of tumour growth. // Br J Surg. – 1991. – Vol. 78. – P. 483–487.

162. Higuchi N., Kato M., Miyazaki M. et al. Potential role of branched-chain amino acids in glucose metabolism through the accelerated induction of the glucose-sensing apparatus in the liver. // J Cell Biochem. – 2011. – Vol. 112. – P. 30–38.

163. Hill J.A. Autophagy in cardiac plasticity and disease. // Pediatr Cardiol. – 2011. – Vol. 32. – P. 282–289

164. Hiroshige K., Sonta T., Suda T. et al. Oral supplementation of branched-chain amino acid improves nutritional status in elderly patients on chronic haemodialysis // Nephrol Dial Transplant. – 2001. – Vol. 16, № 9. – P.1856–1862.

165. Holecek M., Sprongl L., Tilser I. et al. Leucine and protein metabolism in rats with chronic renal insufficiency // Exp Toxicol Pathol. – 2001. – Vol.53, № 1. – P.71–76.

166. Holecek M., Kandar R., Sispera L. et al. Acute

hyperammonemia activates branched-chain amino acid catabolism and decreases their extracellular concentrations: Different sensitivity of red and white muscle. // *Amino Acids*. – 2010. – Vol. 8. – P. 1–10.

167. Holecek M. Three targets of branched-chain amino acid supplementation in the treatment of liver disease. // *Nutrition*. – 2010. – Vol. 26. – P. 482–490.

168. Holecek M. Branched-chain amino acids and ammonia metabolism in liver disease: therapeutic implications // *Nutrition*. – 2013. – Vol. 29, № 10. – P. 1186–1191.

169. Holm E., Sedlacek O., Grips E. Amino acid metabolism in liver disease. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 1999. – Vol. 2. – P. 47–53.

170. Honda M., Takehana K., Sakai A. et al. Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 141. – P. 128–140.

171. Hong S.Y., Yang D.H., Chang S.K. The relationship between plasma homocysteine and amino acid concentrations in patients with end-stage renal disease // *J Ren Nutr*. – 1998. – Vol. 8, № 1. – P. 34–39.

172. Huang Y., Zhou M., Sun H. et al. Branched-chain amino acid metabolism in heart disease: an epiphenomenon or a real culprit? // *Cardiovasc Res*. – 2011 – Vol. 90, № 2. – P. 220–223.

173. Ichikawa K., Okabayashi T., Shima Y. et al. Branched-chain amino acid-enriched nutrients stimulate antioxidant DNA repair in a rat model of liver injury induced by carbon tetrachloride. // *Mol Biol Rep*. – 2012. – Vol. 39. – P. 10803–10810.

174. Ichikawa K., Okabayashi T., Maeda H. et al. Oral supplementation of branched-chain amino acids reduces early recurrence after hepatic resection in patients with hepatocellular carcinoma: a prospective study. // *Surg Today*. – 2013. – Vol. 43. – P. 720–726.

175. Ijichi C., Matsumura T., Tsuji T. et al. Branched-chain amino acids promote albumin synthesis in rat primary hepatocytes through the mTOR signal transduction system. // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2003. – Vol. 303. – P. 59–64.

176. Ivarsen P., Tietze I.N., Pedersen E.B. Nutritional status and amino acids in granulocytes and plasma in patients with chronic renal disease and varying residual renal function. // *Nephron*. – 2001. – Vol. 88. – P. 224–232.

177. Iwasa J., Shimizu M., Shiraki M. et al. Dietary supplementation with branched-chain amino acids suppresses

diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-db/db mice. // *Cancer Sci.* – 2010. – Vol. 101. – P. 460–467.

178. James J.H., Ziparo V., Jeppsson B. et al. Hyperammonaemia, plasma aminoacid imbalance, and blood-brain aminoacid transport: a unified theory of portal-systemic encephalopathy. // *Lancet.* – 1979. – Vol. 2. – P. 772–775.

179. Jensen M.D., Haymond M.W. Protein metabolism in obesity: effects of body fat distribution and hyperinsulinemia on leucine turnover. // *Am J Clin Nutr.* – 1991. – Vol. 53. – P. 172–176.

180. Jin G., Kataoka Y., Tanaka M. et al. Changes in plasma and tissue amino acid levels in an animal model of complex fatigue. // *Nutrition.* – 2009. – Vol. 25. – P. 597–607.

181. Jose D.G., Good R.A. Quantitative aspects of nutritional essential amino acid deficiency upon immune responses to tumours in mice. // *J Exp Med.* – 1973. – Vol. 137. – P. 1–9.

182. Joshi M.A., Jeoung N.H., Obayashi M. et al. Impaired growth and neurological abnormalities in branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase-deficient mice. // *Biochem J.* – 2006. – Vol. 28. – P. 28.

183. Jousse C., Averous J., Bruhat A. et al. Amino acids as regulators of gene expression: molecular mechanisms. // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 2004. – Vol. 313. – P. 447–452.

184. Jozwik M., Teng C., Wilkening R. Effects of branched-chain amino acids on placental amino acid transfer and insulin and glucagons release in the ovine fetus // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 185. – P. 487–495.

185. Kakazu E., Kanno N., Ueno Y. et al. Extracellular branched-chain amino acids, especially valine, regulate maturation and function of monocyte-derived dendritic cells. // *J Immunol.* – 2007. – Vol. 179. – P. 7137–7146.

186. Kalantar-Zadeh K., Anker S.D., Horwich T.B. et al. Nutritional and anti-inflammatory interventions in chronic heart failure. // *Am J Cardiol.* – 2008. – Vol. 101. – P. 89–103.

187. Kalhan S.C., Rossi K.Q., Gruca L.L. et al. Relation between transamination of branched chain amino acids and urea synthesis: evidence from human pregnancy. // *Am J Physiol.* – 1998. – Vol. 275. – P. 423–431.

188. Kalhan S., Devapatla S. Pregnancy, insulin resistance and nitrogen accretion. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* – 1999. – Vol. 2. – P. 359–363.

189. Kalhan S.C., Gruca L.L., Parimi P. et al. Serine metabolism in human pregnancy. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol. 284. – P. 733–740.
190. Kalhan S.C., Parimi P.S. Transamination of leucine and nitrogen accretion in human pregnancy and the newborn infant // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 281–287
191. Karlstad M.D., Sayeed M.M. Effect of endotoxic shock on skeletal muscle intracellular electrolytes and amino acid transport. // *Am J Physiol.* – 1987. – Vol. 252. – P. 674–680.
192. Katta A., Kundla S., Kakarla S.K. et al. Impaired overload-induced hypertrophy is associated with diminished mTOR signaling in insulin-resistant skeletal muscle of the obese Zucker rat. // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2010. – Vol. 299. – P. 1666–1675.
193. Katsanos C.S., Kobayashi H., Sheffield-Moore et al. Effect of a leucine-enriched amino acid drink on muscle protein synthesis in the elderly. // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19. – P. 1573.
194. Kawaguchi T., Taniguchi E., Itou M. et al. Branched-chain amino acids improve insulin resistance in patients with hepatitis C virus-related liver disease: report of two cases. // *Liver Int.* – 2007. – Vol. 27. – P. 1287–1292.
195. Kawaguchi T., Nagao Y., Matsuoka H. et al. Branched-chain amino acid-enriched supplementation improves insulin resistance in patients with chronic liver disease. // *Int J Mol Med.* – 2008. – Vol. 22. – P. 105–112.
196. Kawaguchi T., Izumi N., Charlton M.R. et al. Branched-chain amino acids as pharmacological nutrients in chronic liver disease. // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 54. – P. 1063–1070.
197. Keller U., Turkalj I., Laager R. et al. Effects of medium- and long-chain fatty acids on whole body leucine and glucose kinetics in man. // *Metabolism.* – 2002. – Vol. 51. – P. 754–760.
198. Kawaguchi T., Izumi N., Charlton M.R. et al. Branched-chain amino acids as pharmacological nutrients in chronic liver disease. // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 54. – P. 1063–1070.
199. Kelly J.H., Koussayer T., He D.E. et al. An improved model of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure in dogs. // *Hepatology.* 1992. – Vol. 15, № 2. – P. 329–335.
200. Kikuchi F., Kuno T., Nagura Y. et al. The influence of correction of acidosis on plasma level of branched-chain amino acids in chronic hemodialysis patients // *Nihon Jinzo Gakkai Shi.* – 1998. – Vol. 40, № 4. – P. 258–262.

201. Kim N.W., Piatyszek M.A., Prowse K.R. et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. // *Science*. – 1994. – Vol. 266. – P. 2011–2015.

202. Kim J.E., Chen J. Cytoplasmic-nuclear shuttling of FKBP12-rapamycin-associated protein is involved in rapamycin-sensitive signaling and translation initiation. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2000. – Vol. 97. – P. 14340–14345.

203. Kim S.J., Kim D.G., Lee M.D. Effects of branched-chain amino acid infusions on liver regeneration and plasma amino acid patterns in partially hepatectomized rats. // *Hepatogastroenterology*. – 2011. – Vol. 58. – P. 1280–1285.

204. Kimball S.R., Jefferson L.S. Regulation of global and specific mRNA translation by oral administration of branched-chain amino acids. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. – Vol. 313. – P. 423–427.

205. Kimball S.R., Jefferson L.S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 227–231.

206. King P., Power M.D. Branched chain amino/keto acid supplementation following severe burn injury: a preliminary report. // *Clin Nutr.* – 1990. – Vol. 9. – P. 226–230

207. Kitagawa T., Yokoyama Y., Kokuryo T. et al. Protective effects of branched-chain amino acids on hepatic ischemia-reperfusion-induced liver injury in rats: a direct attenuation of Kupffer cell activation. // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. – 2013. – Vol. 304. – P. 346–355.

208. Kiyono T., Foster S.A., Koop J.I. et al. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. // *Nature* – 1998. – Vol. 396. – P. 84–88.

209. Kobayashi H., Kato H., Hirabayashi Y. et al. Modulations of muscle protein metabolism by branched-chain amino acids in normal and muscle-atrophying rats. // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 234–236.

210. Kobayashi M., Ikeda K., Arase Y. et al. Inhibitory effect of branched-chain amino acid granules on progression of compensated liver cirrhosis due to hepatitis C virus. // *J Gastroenterol*. – 2008. – Vol. 43. – P. 63–70.

211. Koch B., Schroder M.T., Schafer G. et al. Comparison between transport and degradation of leucine and glutamine by peripheral human lymphocytes exposed to concanavalin A. // *J Cell*

Physiol. – 1990. – Vol. 143. – P. 94–99.

212. Kooman J.P., Deutz N.E., Zijlmans P. et al. The influence of bicarbonate supplementation on plasma levels of branched-chain amino acids in haemodialysis patients with metabolic acidosis // *Nephrol Dial Transplant.* – 1997. – Vol. 12, № 11. – P. 2397–2401.

213. Koruk M., Savas M.C., Yilmaz O. et al. Serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. // *J Clin Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 37. – P.177–182.

214. Kumada H., Okanoue T., Onji M. et al. Guidelines for the treatment of chronic hepatitis and cirrhosis due to hepatitis C virus infection for the fiscal year 2008 in Japan. // *Hepatol Res.* – 2010. – Vol. 40. – P. 8–13.

215. Kumar M.A., Bitla A.R., Raju K.V. et al. Branched chain amino acid profile in early chronic kidney disease // *Saudi J Kidney Dis Transpl.* – 2012. – Vol. 23, № 6. – P. 1202–1207

216. Kurpad A.V., Jahoor F., Borgonha S. et al. A minimally invasive tracer protocol is effective in assessing the response of leucine kinetics and oxidation to vaccination in chronically energy-deficient adult males and children. // *J Nutr.* – 1999. – Vol. 129. – P. 1537–1544.

217. Kurpad A.V., Regan M.M., Nazareth D. et al. Intestinal parasites increase the dietary lysine requirement in chronically undernourished adult Indian men. // *Am J Clin Nutr.* – 2003. – Vol. 78. – P. 1145–1151.

218. Kurpad A.V., Regan M.M., Raj T. et al. Branched-chain amino acid requirements in healthy adult human subjects. // *J Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 256–263.

219. Kuwahata M., Yoshimura T., Sawai Y. et al. Localization of polypyrimidine-tract-binding protein is involved in the regulation of albumin synthesis by branched-chain amino acids in HepG2 cells. // *J Nutr Biochem.* – 2008. – Vol. 19. – P. 438–447.

220. Kuwahata M., Kubota H., Kanouchi H. et al. Supplementation with branched-chain amino acids attenuates hepatic apoptosis in rats with chronic liver disease. // *Nutr Res.* – 2012. – Vol. 32. – P. 522–529.

221. Lang C.H., Silvis C., Nystrom G. et al. Regulation of myostatin by glucocorticoids after thermal injury. // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15. – P. 1807–1809

222. Lang C.H. Elevated plasma free fatty acids decrease basal protein synthesis, but not the anabolic effect of leucine, in skeletal muscle // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* - 2006. – Vol. 291. – P. 666–

674.

223. Layman D.K. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. // J Nutr. – 2003. – Vol. 133. – P. 261–267.

224. Layman D.K., Baum J.I. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. // J. Nutr. – 2004. – Vol. 134. – P. 968–973.

225. Layman D.K., Evans E., Baum J.I. et al. Dietary protein and exercise have additive effects on body composition during weight loss in adult women //J. Nutr. – 2005. – V. 135. – P. 1903–1910.

226. Layman D.K., Walker D.A. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. // J Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 319–323.

227. Leclercq B., Seve B. Influence of adiposity (genetic or hormonal) on the metabolism of amino acids and nutritional responses. // Reprod Nutr Dev. – 1994. – Vol. 34. – P. 569–582.

228. Lee I.J., Seong J., Bae J.I. et al. Effect of oral supplementation with branched-chain amino acid (BCAA) during radiotherapy in patients with hepatocellular carcinoma: a double-blind randomized study. // Cancer Res Treat. – 2011. – Vol. 43. – P. 24–31.

229. Les I., Doval E., García-Martínez R. et al. Effects of branched-chain amino acids supplementation in patients with cirrhosis and a previous episode of hepatic encephalopathy: a randomized study. // Am J Gastroenterol. – 2011. – Vol. 106. – P. 1081–1088.

230. Lieth E., LaNoue K.F., Berkich D. A. et al. Nitrogen shuttling between neurons and glial cells during glutamate synthesis. // J. Neurochem. – 2001. – Vol. 76. – P. 1712–1723

231. Lim V.S., Bier D.M., Flanigan M.J. et al. The effect of hemodialysis on protein metabolism. A leucine kinetic study. // J Clin Invest. – 1993. – Vol. 91. – P. 2429–2436.

232. Lim V.S., Yarasheski K.E., Crowley J.R. et al. Insulin is protein-anabolic in chronic renal failure patients. // J Am Soc Nephrol. – 2003. – Vol. 14. – P. 2297–22304

233. Lind D.S. Arginine and cancer. // J Nutr. – 2004. – Vol. 134. –P. 2837–2841.

234. Liu Z., Long W., Fryburg D.A. et al. The regulation of body and skeletal muscle protein metabolism by hormones and amino acids. // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 212–217.

235. Ljungqvist O., Persson M., Ford G.C. et al. Functional heterogeneity of leucine pools in human skeletal muscle. // Am J Physiol. – 1997. – Vol. 273. – P. 564–570.

236. Loridan L., Sadeghi-Nejad A., Senior B. Hypersecretion of

insulin after the administration of L-leucine to obese children. // J. Pediatrics. – 1971. – Vol. 78. – P. 53–58.

237. Lu G., Ren S., Korge P. et al. A novel mitochondrial matrix serine/threonine protein phosphatase regulates the mitochondria permeability transition pore and is essential for cellular survival and development. // Genes Dev. – 2007. – Vol. 21. – P. 784–796.

238. Lu G., Sun H., She P. et al. Protein phosphatase 2Cm is a critical regulator of branched-chain amino acid catabolism in mice and cultured cells. // J Clin Invest. – 2009. – Vol. 119. – P. 1678–1687

239. Luc J.C. Leucine as a pharmaconutrient in health and disease // Curr. Opin Clin.Nutr. Metab. Care – 2012. – Vol. 15. – P. 71–77.

240. Luzi L., Castellino P., DeFronzo R.A. Insulin and hyperaminoacidemia regulate by a different mechanism leucine turnover and oxidation in obesity. // Am J Physiol. – 1996. – Vol. 270. – P. 273–281.

241. Lynch C.J., Patson B.J., Anthony J. et al. Leucine is a direct-acting nutrient signal that regulates protein synthesis in adipose tissue. // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2002. – Vol. 283. – P. 503–513.

242. Lynch C.J., Gern B., Lloyd C. et al. Leucine in food mediates some of the postprandial rise in plasma leptin concentrations. // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2006. – Vol. 291. – P. 621–630.

243. Maccario M., Procopio M., Loche S. et al. Interaction of free fatty acids and arginine on growth hormone secretion in man. // Metabolism. – 1994. – Vol. 43. – P. 223–226.

244. Macintosh B.R., Rassier D.E. What is fatigue? // Appl. Physiol. Nutr. Metab. – 2002. – Vol. 27. – P.42–55.

245. Mak R.H. Effect of metabolic acidosis on branched-chain amino acids in uremia // Pediatr Nephrol. – 1999. – Vol.13, № 4. – P. 319–22.

246. Małgorzewicz S., Debska-Slizień A., Rutkowski B. et al. Serum concentration of amino acids versus nutritional status in hemodialysis patients // J Ren Nutr. – 2008. – Vol. 18, № 2. – P. 239–247.

247. Manders R.J., Koopman R., Sluijsmans W.E. et al. Co-ingestion of a protein hydrolysate with or without additional leucine effectively reduces post-prandial blood glucose excursions in type 2 diabetic men. // J. Nutr. 2006. – Vol. 136. – P. 1294–1299.

248. Marc Rhoads J., Wu G. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. // Amino Acids. – 2009. – Vol. 37. – P. 111–122.

249. Marchesini G., Bianchi G., Rossi B. et al. Effects of hyperglycaemia and hyperinsulinaemia on plasma amino acid levels in obese subjects with normal glucose tolerance. // *Int J Obes Relat Metab Disord.* – 2000. – Vol. 24. – P. 552–558.

250. Marchesini G., Bianchi G., Merli M. et al. Nutritional supplementation with branched-chain amino acids in advanced cirrhosis: a double-blind, randomized trial. // *Gastroenterology.* – 2003. – Vol. 124. – P. 1792–1801.

251. Marchesini G., Marzocchi R., Noia M. et al. Branched-chain amino acid supplementation in patients with liver diseases // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135. – P. 1596–1601

252. Marzani B., Balage M., Vénien A. et al. Antioxidant supplementation restores defective leucine stimulation of protein synthesis in skeletal muscle from old rats // *J. Nutr.* – 2008. – Vol. 138, No. 11. – P. 2205–2211

253. Matthews D.E. Observations of branched-chain amino acid administration in humans // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135. – P. 6.

254. Matthews D.E., Marano M.A., Campbell R.G. Splanchnic bed utilization of leucine and phenylalanine in humans. // *Am J Physiol.* – 1993. – Vol. 264. – P. 109–118.

255. Mayot G., Vidal K., Martin J.F. et al. Prognostic values of alpha2-macroglobulin, fibrinogen and albumin in regards to mortality and frailty in old rats. // *Exp Gerontol.* – 2007. – Vol. 42. – P. 498–505.

256. McCullough A.J., Mullen K.D., Kalhan S.C. Body cell mass and leucine metabolism in cirrhosis. // *Gastroenterology.* – 1992. – Vol. 102. – P. 1325–1333.

257. McCullough A.J., Mullen K.D., Kalhan S.C. Defective nonoxidative leucine degradation and endogenous leucine flux in cirrhosis during an amino acid infusion. // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 28. – P. 1357–1364.

258. McCully K.K., Authier B., Olive J. Muscle fatigue: The role of metabolism. // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2002. – Vol. 27. – P. 70–82.

259. Meek S.E., Persson M., Ford G.C. et al. Differential regulation of amino acid exchange and protein dynamics across splanchnic and skeletal muscle beds by insulin in healthy human subjects. // *Diabetes.* – 1998. – Vol. 47. – P. 1824–1835.

260. Meeusen R., Watson P., Hasegawa H. et al. Brain neurotransmitters in fatigue and overtraining. // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2007. – Vol. 32. – P. 857–864.

261. Mehta S.H., Brancati F.L., Sulkowski M.S. et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. // *Ann. Intern. Med.* – 2000. – Vol. 133. – P. 592–599.

262. Meijer A.J. Amino acid regulation of autophagosome formation. // *Methods Mol Biol.* – 2008. – Vol. 445. – P. 89–109.

263. Metges C.C., El-Khoury A.E., Henneman L. et al. Availability of intestinal microbial lysine for whole body lysine homeostasis in human subjects. // *Am J Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. 597–607.

264. Miller R.H., Eisenstein R.S., Harper A.E. Effects of dietary protein intake on branched-chain keto acid dehydrogenase activity of the rat. Immunochemical analysis of the enzyme complex. // *The Journal of biological chemistry.* – 1988. – Vol. 263. – P. 3454–3461.

265. Millward D.J. Sufficient protein for our elders? // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 88. – P. 1187–1188.

266. Mitch W.E., Price S.R., May R.C. et al. Metabolic consequences of uremia: extending the concept of adaptative responses to protein metabolism. // *Am J Kidney Dis.* – 1994. – Vol. 23. – P. 224–228.

267. Mittleman K.D., Ricci M.R., Bailey S.P. Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women. // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 1998. – Vol. 30. – P. 83–91.

268. Miuma S., Ichikawa T., Arima K. et al. Branched-chain amino acid deficiency stabilizes insulin-induced vascular endothelial growth factor mRNA in hepatocellular carcinoma cells. // *J Cell Biochem.* – 2012. – Vol. 113. – P. 3113–3121.

269. Miyake T., Abe M., Furukawa S. et al. Long-term branched-chain amino acid supplementation improves glucose tolerance in patients with nonalcoholic steatohepatitis-related cirrhosis. // *Intern Med.* – 2012. – Vol. 51. – P. 2151–2155.

270. Mochizuki H., Trocki O., Dominioni L. et al. Effect of a diet rich in branched chain amino acids on severely burned guinea pigs. // *J Trauma.* – 1986. – Vol. 26. – P. 1077–1085.

271. Mogensen M., Sahlin K., Fernstrom M. et al. Mitochondrial respiration is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56. – P. 1592–1599.

272. Moller N., Meek S., Bigelow M. et al. The kidney is an important site for in vivo phenylalanine-to-tyrosine conversion in adult

humans: a metabolic role of the kidney. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2000. – Vol. 97. – P. 1242–1246.

273. Mori E., Hasebe M., Kobayashi K. Immediate stimulation of protein metabolism in burned rats by total parenteral nutrition enriched in branched chain amino acids. // *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. – 1989. – Vol. 13. – P. 484–489.

274. Mourier A., Bigard A.X., de Kerviler E. et al. Combined effects of caloric restriction and branched-chain amino acid supplementation on body composition and exercise performance in elite wrestlers. // *Int J Sports Med*. – 1997. – Vol. 18. – P. 47–55.

275. Muto Y., Sato S., Watanabe A. et al. Effects of oral branched-chain amino acid granules on event-free survival in patients with liver cirrhosis. // *Clin Gastroenterol Hepatol*. – 2005. – Vol. 3. – P. 705–713.

276. Muto Y., Sato S., Watanabe A. et al. Overweight and obesity increase the risk for liver cancer in patients with liver cirrhosis and long-term oral supplementation with branched-chain amino acid granules inhibits liver carcinogenesis in heavier patients with liver cirrhosis. // *Hepatol Res*. – 2006. – Vol. 35. – P. 204–214.

277. Nagao Y., Kawaguchi T., Ide T. et al. Effect of branched-chain amino acid-enriched nutritional supplementation on interferon therapy in Japanese patients with chronic hepatitis C virus infection: a retrospective study. // *Virol J*. – 2012. – Vol. 9. – P. 282.

278. Nakano M., Nakashima A., Nagano T. et al. Branched-chain amino acids enhance premature senescence through mammalian target of rapamycin complex I-mediated upregulation of p21 protein // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. 80411.

279. Nair K.S., Welle S.L., Halliday D. et al. Effect of beta-hydroxybutyrate on whole-body leucine kinetics and fractional mixed skeletal muscle protein synthesis in humans. // *J Clin Invest*. – 1988. – Vol. 82. – P. 198–205.

280. Nair K. S., Schwartz R. G., Welle S. Leucine as a regulator of whole body and skeletal muscle protein metabolism in humans. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. – 1992. – Vol. 263. – P. 928–934.

281. Nair K.S., Ford G.C., Ekberg K. et al. Protein dynamics in whole body and in splanchnic and leg tissues in type 1 diabetic patients. // *J Clin Invest*. – 1995. – Vol. 95. – P. 2926–2937.

282. Nair K. S., Short K.R. Hormonal and signaling role of branched-chain amino acids // *J. Nutr*. – 2005. – Vol. 135, № 6. – P. 1547S–1552S.

283. Nakagawa T., Lomb D.J., Haigis M.C. et al. SIRT5 deacetylates carbamoyl phosphate synthetase 1 and regulates the urea cycle. // *Cell*. – 2009. – Vol. 137. – P. 560–570.

284. Nakai N., Kobayashi R., Popov K.M. et al. Determination of branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity state and branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase activity and protein in mammalian tissues. // *Methods in enzymology*. – 2000. – Vol. 324. – P. 48–62.

285. Nakamura I., Ochiai K., Imai Y. et al. Restoration of innate host defense responses by oral supplementation of branched-chain amino acids in decompensated cirrhotic patients. // *Hepatol Res*. – 2007. – Vol. 37. – P. 1062–1067.

286. Nakano M., Nakashima A., Nagano T. et al. Branched-chain amino acids enhance premature senescence through mammalian target of rapamycin complex I-mediated upregulation of p21 protein // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. 80411.

287. Nakashima K., Ishida A., Yamazaki M. et al. Leucine suppresses myofibrillar proteolysis by down-regulating ubiquitin-proteasome pathway in chick skeletal muscles // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2005. – Vol. 336, № 2. – P. 660–666.

288. Nakaya Y., Harada N., Kakui S. et al. Severe catabolic state after prolonged fasting in cirrhotic patients: effect of oral branched-chain amino-acid-enriched nutrient mixture. // *J Gastroenterol*. – 2002. – Vol. 37. – P. 531–536.

289. Nakaya Y., Okita K., Suzuki K. et al. BCAA-enriched snack improves nutritional state of cirrhosis. // *Nutrition*. – 2007. – Vol. 23. – P. 113–120.

290. Navegantes L.C., Migliorini R.H., do Carmo Kettelhut I. Adrenergic control of protein metabolism in skeletal muscle. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 2002. – Vol. 5. – P. 281–286.

291. Nellis M.M., Doering C.B., Kasinski A. et al. Insulin increases branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase kinase expression in Clone 9 rat cells. // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2002. – Vol. 283. – P. 853–860.

292. Newgard C.B., An J., Bain J.R., Muehlbauer M.J. et al. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. // *Cell Metab*. – 2009. – Vol. 9. – P. 311–326.

293. Newgard C.B. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance // *Cell Metabolism* –

2012. – Vol. 15, № 5. – P. 606–614.

294. Newsholme E.A., Blomstrand E., Ekblom B. Physical and mental fatigue: metabolic mechanisms and importance of plasma amino acids. // *Br Med Bull.* – 1992. – Vol. 48. – P. 477–495.

295. Newsholme E.A., Blomstrand E. The plasma level of some amino acids and physical and mental fatigue. // *Experientia.* – 1996. – Vol. 52. – P. 413–415.

296. Ninomiya S., Shimizu M., Imai K. et al. Possible role of visfatin in hepatoma progression and the effects of branched-chain amino acids on visfatin-induced proliferation in human hepatoma cells. // *Cancer Prev Res (Phila).* – 2011. – Vol. 4. – P. 2092–2100.

297. Nishikawa H., Osaki Y., Inuzuka T. et al. Branched-chain amino acid treatment before transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. // *World J Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18. – P. 1379–1384.

298. Nishimura J., Masaki T., Arakawa M. Isoleucine prevents the accumulation of tissue triglycerides and upregulates the expression of PPARalpha and uncoupling protein in diet-induced obese mice. // *J Nutr.* – 2010. – Vol. 140. – P. 496–500.

299. Nishitani S., Takehana K., Fujitani S. et al. Branched-chain amino acids improve glucose metabolism in rats with liver cirrhosis. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – Vol. 288. – P. 1292–1300.

300. Nisoli E., Tonello C., Cardile A. et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. // *Science.* – 2005. – Vol. 310. – P. 314–317.

301. Noel J.M., Cano F.D, Xavier M. L. Branched-chain aminoacid: metabolism, physiology function, and application: Session IV. // *Am Soc Nutr J.* – 2006. – Vol. 136. – P. 299–307.

302. Nybo L., Secher N.H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise // *Prog Neurobiol.* – 2004. – Vol. 72. – P. 223–261.

303. Nygren J., Nair K.S. Differential regulation of protein dynamics in splanchnic and skeletal muscle beds by insulin and amino acids in healthy human subjects. // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52. – P. 1377–1385.

304. Okabayashi T., Iyoki M., Sugimoto T. et al. Oral supplementation with carbohydrate- and branched-chain amino acid-enriched nutrients improves postoperative quality of life in patients undergoing hepatic resection. // *Amino Acids.* – 2011. – Vol. 40. – P. 1213–1220.

305. Okada K., Takehara H., Okada A. Tumor glutamine level is negatively correlated with tumor weight in tumor-bearing rats administered a glutamine antagonist and a new imbalanced amino acid solution. // J Clin Biochem Nutr. – 1992. – Vol. 12. – P. 183–191.

306. Okuno M., Moriwaki H., Kato M. et al. Changes in the ratio of branched-chain to aromatic amino acids affect the secretion of albumin in cultured rat hepatocytes. // Biochem Biophys Res Commun. – 1995. – Vol. 214. – P. 1045–1050

307. O'Shea R.S., McCullough A.J. Treatment of alcoholic hepatitis. // Clin Liver Dis. – 2005. – Vol. 9. – P. 103–134.

308. Papet I., Dardevet D., Sornet C. et al. Acute phase protein levels and thymus, spleen and plasma protein synthesis rates differ in adult and old rats. // J Nutr. – 2003. – Vol. 133. – P. 215–219.

309. Patterson B.W., Horowitz J.F., Wu G. et al. Regional muscle and adipose tissue amino acid metabolism in lean and obese women.// Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2002. – Vol.282. – P. 31–936.

310. Pardridge W.M. Blood-brain barrier carrier-mediated transport and brain metabolism of amino acids. // Neurochem Res. – 1998. – Vol. 23. – P. 635–644.

311. Paxton R., Kuntz M., Harris R.A. Phosphorylation sites and inactivation of branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase isolated from rat heart, bovine kidney, and rabbit liver, kidney, heart, brain, and skeletal muscle. // Arch Biochem Biophys. – 1986. – Vol. 244. – P. 187–201

312. Pedersen B.K., Bruunsgaard H. How physical exercise influences the establishment of infections // Sports Med. – 1995. – Vol. 19. – P. 393–400.

313. Pellegrino M.A., Patrini C., Pasini E. et al. Amino acid supplementation counteracts metabolic and functional damage in the diabetic rat heart. // Am J Cardiol. – 2008. – Vol. 101. – P. 49–56.

314. Pereira S., Marliss E.B., Morais J. et al. Insulin resistance of protein metabolism in type 2 diabetes mellitus. // Diabetes. – 2008. – Vol. 57. – P. 56–63.

315. Petersen K.F., Befroy D., Dufour S. et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: Possible role in insulin resistance. // Science. – 2003. – Vol. 300. – P. 1140–1142.

316. Petro T.M., Bhattacharjee J.K. Effect of dietary essential amino acid limitations upon susceptibility to Salmonella typhimurium and the effect upon humoral and cellular immune response in mice. //

Infect Immun. – 1981. – Vol. 32. – P. 251–259.

317. Pisters P.W., Restifo N.P., Cersosimo E. et al. The effects of euglycemic hyperinsulinemia and amino acid infusion on regional and whole body glucose disposal in man. // *Metabolism*. – 1991. – Vol. 40. – P. 59–65.

318. Plauth M., Cabré E., Riggio O. et al. ESPEN guidelines on enteral nutrition: liver disease. // *Clin Nutr*. – 2006. – Vol. 25. – P. 285–294.

319. Plauth M., Schütz T. Branched-chain amino acids in liver disease: new aspects of long known phenomena. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 2011. – Vol. 14. – P. 61–66.

320. Pópulo H., Lopes J.M., Soares P. The mTOR signalling pathway in human cancer. // *Int J Mol Sci*. – 2012. – Vol. 13. – P. 1886–1918.

321. Potier M., Darcel N., Tome D. Protein, amino acids, and the control of food intake. // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 2009. – Vol. 12. – P. 54–58.

322. Proud C.G. mTOR-mediated regulation of translation factors by amino acids. // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 2004. – 313. – P. 429–436.

323. Proud C.G. eIF2 and the control of cell physiology. // *Semin Cell Dev Biol*. – 2005. – Vol. 16. – P. 3–12.

324. Qureshi A.R., Alvestrand A., Danielsson A. et al. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: A cross-sectional study. // *Kidney Int*. – 1998. – Vol. 53. – P. 773–782.

325. Raj D.S., Welbourne T., Dominic E.A. et al. Glutamine kinetics and protein turnover in end-stage renal disease. // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2005. – Vol. 288. – P. 37–46.

326. Raj T., Dileep U., Vaz M. et al. Intestinal microbial contribution to metabolic leucine input in adult men // *J. Nutr*. – 2008. – Vol. 138. – P. 2217–2221

327. Record C.O., Buxton B., Chase R.A. et al. Plasma and brain amino acids in fulminant hepatic failure and their relationship to hepatic encephalopathy. // *Eur J Clin Invest*. – 1976. – Vol. 6. – P. 387–394.

328. Reeds PJ. Dispensable and indispensable amino acids for humans // *J. Nutr*. – 2000. – Vol. 130. – P. 1835–1840.

329. Rennie M.J., Wackerhage H., Spangenburg E.E. et al. Control of the size of the human muscle mass. // *Annu. Rev. Physiol*. – 2004. – Vol. 66. – P. 799–828.

330. Rennie M.J., Bohe J., Smith K. et al. Branched-chain amino

acids as fuels and anabolic signals in human muscle. // J Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 264–268.

331. Riazi R., Wykes L.J., Ball R.O. et al. The total branched-chain amino acid requirement in young healthy adult men determined by indicator amino acid oxidation by use of L-[1-¹³C]phenylalanine. // J Nutr. – 2003. – Vol. 133. – P. 1383–1389.

332. Richter J.D., Sonenberg N. Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. // Nature. – 2005. – Vol. 433. – P. 477–480.

333. Richter B., Schmandra T.C., Golling M. et al. Nutritional support after open liver resection: a systematic review. // Dig Surg. – 2006. – Vol. 23. – P. 139–145.

334. Rieu I., Balage M., Sornet C. et al. Leucine supplementation improves muscle protein synthesis in elderly men independently of hyperaminoacidaemia // J Physiol. - 2006 – Vol. 575. – P. 305–315.

335. Rigalleau V., Combe C., Blanchetier V. et al. Low protein diet in uremia: effects on glucose metabolism and energy production rate. // Kidney Int. – 1997. – Vol. 51. – P. 1222–1227.

336. Rocha D.M., Faloona G.R., Unger R.H. Glucagon-stimulating activity of 20 amino acids in dogs. // J. Clin. Invest. – 1972. – Vol. 51. – P. 2346–2351.

337. Romano S., Valayannopoulos V., Touati G. et al. Cardiomyopathies in propionic aciduria are reversible after liver transplantation. // J Pediatr. – 2010. – Vol. 156. – P. 128–134.

338. Saha A.K., Xu X.J., Lawson E. et al. Downregulation of AMPK accompanies leucine- and glucose-induced increases in protein synthesis and insulin resistance in rat skeletal muscle. // Diabetes. – 2010. – Vol. 59, № 10. – P. 2426–2434.

339. Sato Y., Eriksson S., Hagenfeldt L. et al. Influence of branched-chain amino acid infusion on arterial concentrations and brain exchange of amino acids in patients with hepatic cirrhosis // Clin Physiol. – 1981. – Vol. 1. – P. 151–165.

340. Serra F., Pico C., Johnston J. et al. Opposite response to starvation of Trp/LNAA ratio in lean and obese Zucker rats. // Biochem Mol Biol Int. – 1993. – Vol. 29. – P. 483–491.

341. Schaefer A., Piquard F., Geny B., Doutreleau S., Lampert E., Mettauer B., Lonsdorfer J. L-Arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia. // Int J Sports Med. – 2002. – Vol. 23. – P. 403–407.

342. Schadewaldt P., Wendel U. Metabolism of branched-chain

amino acids in maple syrup urine disease. // Eur J Pediatr. – 1997. – Vol. 156. – P. 62–66.

343. Schauder P., Schroder M.T., Schafer G. Regulation of leucine transport and oxidation in peripheral human lymphocytes by glutamine. // Metabolism. – 1989. – Vol. 38. – P. 56–58.

344. Scognamiglio R., Testa A., Aquilani R. et al. Impairment in walking capacity and myocardial function in the elderly: is there a role for nonpharmacologic therapy with nutritional amino acid supplements? // Am J Cardiol. – 2008. – Vol. 101. – P. 78–81.

345. Shah S.H., Bain J.R., Muehlbauer M.J. et al. Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events. // Circ Cardiovasc Genet. – 2010. – Vol. 3. – P. 207–214

346. She P., Reid T.M., Bronson S.K. et al. Disruption of BCATM in mice leads to increased energy expenditure associated with the activation of a futile protein turnover cycle. // Cell Metab. – 2007. – Vol. 6. – P. 181–194.

347. She P., Horn C., Reid T. et al. Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched chain amino acid (BCAA) metabolism // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2007. – Vol. 293, № 6. – P. 1552–1563.

348. She P., Olson K.C., Kadota Y. et al. Leucine and protein metabolism in obese Zucker rats // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 3. – P. 59443.

349. Shirabe K., Yoshimatsu M., Motomura T. et al. Beneficial effects of supplementation with branched-chain amino acids on postoperative bacteremia in living donor liver transplant recipients. // Liver Transpl. – 2011. – Vol. 17. – P. 1073–1080.

350. Shimomura Y., Fujii H., Suzuki M. et al. Branched-chain - keto acid dehydrogenase complex in rat skeletal muscle: regulation of the activity and gene expression by nutrition and physical exercise. // J Nutr. – 1995. – Vol. 125. – P. 1762–1765.

351. Shimomura Y., Murakami T., Nakai N. et al. Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats. // J. Nutr. Sci. Vitamol. – 2000. – Vol. 46. – P. 71–77.

352. Shimomura Y., Obayashi M., Murakami T. et al. Regulation of branched-chain amino acid catabolism: nutritional and hormonal regulation of activity and expression of the branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase. // Curr Opin Clin Nutr Metab Care. – 2001.

– Vol. 4. – P. 419–423.

353. Shimomura Y., Murakami T., Nakai N. et al. Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. // J. Nutr. – 2004. – Vol.134. – P. 1583–1587.

354. Shimomura Y., Yamamoto Y, Bajotto G. et al. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle //J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 529–532.

355. Shiraki M., Shimomura Y., Miwa Y. et al. Activation of hepatic branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex by tumor necrosis factor-alpha in rats. // Biochem Biophys Res Commun. – 2005. – Vol. 328. – P. 973–978.

356. Short K.R., Nygren J., Bigelow M.L. et al. Effect of short-term prednisone use on blood flow, muscle protein metabolism, and function. // J Clin Endocrinol Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 6198–6207.

357. Siddiqui R.A., Williams J.F. The regulation of fatty acid and branched-chain amino acid oxidation in cancer cachectic rats: a proposed role for a cytokine, eicosanoid, and hormone trilogy. // Biochem Med Metab Biol. – 1989. – Vol. 42. – P. 71–86.

358. Smruga M., Kameishi M., Tanaka T. et al. Preference for a solution of branched-chain amino acids plus glutamine and arginine correlates with free running activity in rat. // Nutr Neurosci. – 2002. – Vol. 5. – P. 189–199.

359. Smruga M., Kameish M., Torii K. Exercise-dependent preference for a mixture of branched-chain amino acids and homeostatic control of brain serotonin in exercising rats. // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 548–552.

360. Solini A., Bonora E., Bonadonna R. et al. Protein metabolism in human obesity: relationship with glucose and lipid metabolism and with visceral adipose tissue. // J Clin Endocrinol Metab. – 1997. – Vol. 82. – P. 2552–2558.

361. Spronsen F.J., Groot M.J., Hoeksma M. et al. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice // J Inherit Metab Dis. – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 671–676.

362. Stinnett J.D., Alexander J.W., Watanabe C. et al. Plasma and skeletal muscle amino acids following severe burn injury in patients and experimental animals. // Ann Surg. – 1982. – Vol. 195. – P. 75–89.

363. Stipanuk M.H. Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. // Nutr Rev. – 2007. – Vol. 65. – P. 122–129.

364. St-Pierre J., Drori S., Uldry M. et al. Suppression of reactive

oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. – Cell. – 2006. – Vol. 127. – P. 397–408.

365. Stump C.S., Short K.R., Bigelow M.L. et al. Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis, and mRNA transcripts. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2003. – Vol. 100. – P. 7996–8001.

366. Suliman M.E., Qureshi A.R., Stenvinkel P. et al. Inflammation contributes to low plasma amino acid concentrations in patients with chronic kidney disease. // Am J Clin Nutr. – 2005. – Vol. 82. – P. 342–349.

367. Suryawan A., Hawes J.W., Harris R.A., et al. A molecular model of human branched-chain amino acid metabolism. // Am J Clin Nutr. – 1998. – Vol. 68. – P. 72–87.

368. Suzuki K., Suzuki K., Koizumi K. et al. Measurement of serum branched-chain amino acids to tyrosine ratio level is useful in a prediction of a change of serum albumin level in chronic liver disease. // Hepatol Res. 2008. – Vol. 38. – P. 267–272.

369. Sweatt A.J., Wood M., Suryawan A. et al. Branched-chain amino acid catabolism: unique segregation of pathway enzymes in organ systems and peripheral nerves. // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2004. – Vol. 286 – P. 64–76.

370. Tajiri K., Shimizu Y. Branched-chain amino acids in liver diseases // World J Gastroenterol. – 2013. – Vol. 19, № 43. – P. 7620–7629.

371. Takano, A., Usui, I., Haruta, T. et al. Mammalian target of rapamycin pathway regulates insulin signaling via subcellular redistribution of insulin receptor substrate 1 and integrates nutritional signals and metabolic signals of insulin. // Mol. Cell. Biol. – 2001. – Vol. 21. – P. 5050–5055.

372. Takeshita S., Ichikawa T., Nakao K. et al. A snack enriched with oral branched-chain amino acids prevents a fall in albumin in patients with liver cirrhosis undergoing chemoembolization for hepatocellular carcinoma. // Nutr Res. – 2009. – Vol. 29. – P. 89–93

373. Takeshita Y., Takamura T., Kita Y. et al. Beneficial effect of branched-chain amino acid supplementation on glycemic control in chronic hepatitis C patients with insulin resistance: implications for type 2 diabetes. // Metabolism. – 2012. – Vol. 61. – P. 1388–1394.

374. Tang H., Hornstein E., Stolovich M. et al. Amino acid-induced translation of TOP mRNAs is fully dependent on phosphatidylinositol 3-kinase-mediated signaling, is partially inhibited

by rapamycin, and is independent of S6K1 and rpS6 phosphorylation. // *Mol Cell Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 8671–8683.

375. Teplan V., Schück O., Horácková M. et al. Effect of a keto acid-amino acid supplement on the metabolism and renal elimination of branched-chain amino acids in patients with chronic renal insufficiency on a low protein diet // *Wien Klin Wochenschr.* – 2000. – Vol. 112, № 20. – P. 876–881.

376. Tizianello A., Deferrari G., Garibotto G. et al. Is amino acid imbalance harmful to patients in chronic renal failure? // *Kidney Int Suppl.* – 1985. – Vol. 17. – P. 79-83.

377. Toigo G., Aparicio M., Attman P-O. et al. ESPEN consensus on nutritional treatment of patients with renal insufficiency (Part 1 of 2). // *Clin Nutr.* – 2000. – Vol. 19. – P. 197–207.

378. Tom A., Nair K. S. Assessment of branched-chain amino acid status and potential for biomarkers // *J. Nutr.* – 2006. – V. 136. – P. 324–330.

379. Tomiya T., Omata M., Fujiwara K. Significance of branched chain amino acids as possible stimulators of hepatocyte growth factor. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2004. – Vol. 313. – P. 411–416.

380. Tovar A.R., Becerril E., Hernandez-Pando R. et al. Localization and expression of BCAT during pregnancy and lactation in the rat mammary gland. // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2001. – Vol. 280. – P. 480–488.

381. Toyosawa T., Suzuki M., Kodama K. et al. Potentiation by amino acid of the therapeutic effect of highly purified vitamin B2 in mice with lipopolysaccharide-induced shock. // *Eur J Pharmacol.* – 2004. – Vol. 493. – P. 177–182.

382. Tremblay, F., Marette, A. Amino acid and insulin signaling via the mTOR/p70 S6 kinase pathway. A negative feedback mechanism leading to insulin resistance in skeletal muscle cells. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 38052–38060.

383. Tsukishiro T., Shimizu Y., Higuchi K. et al. Effect of branched-chain amino acids on the composition and cytolytic activity of liver-associated lymphocytes in rats. // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2000. – Vol. 15. – P. 849–859.

384. Um S.H., D'Alessio D., Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. // *Cell Metab.* – 2006. – Vol. 3. – P. 393–402.

385. Urata Y., Okita K., Korenaga K. et al. The effect of supplementation with branched-chain amino acids in patients with liver

cirrhosis. // *Hepatol. Res.* – 2007. – Vol. 37. – P. 510–516.

386. Valerio A., D'Antona G., Nisoli E. Branched-chain amino acids, mitochondrial biogenesis, and healthspan: an evolutionary perspective // *Aging (Albany NY)*. – 2011. – Vol. 3, № 5. – P. 464–478.

387. Valovka T., Verdier F., Cramer R. et al. Protein kinase C phosphorylates ribosomal protein S6 kinase betaII and regulates its subcellular localization. // *Mol Cell Biol.* – 2003. – Vol. 23. – P. 852–863.

388. Van Bilsen M., van Nieuwenhoven F.A., van der Vusse G.J. Metabolic remodelling of the failing heart: beneficial or detrimental? // *Cardiovasc Res.* – 2009. – Vol. 81. – P. 420–428.

389. Van Haeften T.W., Voetberg G.A., Gerich J.E. et al. Dose-response characteristics for arginine-stimulated insulin secretion in man and influence of hyperglycemia. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1989. – Vol. 69. – P. 1059–1064.

390. Van Hall G. J., Raaymakers S. H., Saris W.H.M. et al. Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise in man: failure to affect performance // *J. Physiol.* – 1995. – Vol. 486. – P. 789–794.

391. Vary T.C., Lynch C.J. Nutrient-signaling components controlling protein synthesis in striated muscle. // *J Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1835–1843.

392. Vente J.P., von Meyenfeldt M.F., van Eijk H.M. et al. Plasma-amino acid profiles in sepsis and stress. // *Ann Surg.* – 1989. – Vol. 209. – P. 57–62.

393. Ventrucchi G., de Mello M.A., Gomes-Marcondes M.C. Effects of leucine supplemented diet on intestinal absorption in tumor bearing pregnant rats. // *BMC Cancer.* – 2002. – Vol. 2 - P. 7.

394. Ventrucchi G., Mello M.A., Gomes-Marcondes M.C. Proteasome activity is altered in skeletal muscle tissue of tumour-bearing rats fed a leucine-rich diet. // *Endocr Relat Cancer.* – 2004. – Vol. 11. – P. 887–895.

395. Volpi E., Mittendorfer B., Wolf S.E. et al. Oral amino acids stimulate muscle protein anabolism in the elderly despite higher first-pass splanchnic extraction. // *Am J Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. 513–520

396. Volpi E., Kobayashi H., Sheffield-Moore M. et al. Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults. // *Am J Clin Nutr.* – 2003. – Vol. 78. – P. 250–258.

397. Wagenmakers A.J.M. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: Role in human physiology and metabolism. // *Exerc. Sports Rev.* – 1998. – Vol. 26. – P. 287–314.
398. Wada L., Don B.R., Schambelan M. Hormonal mediators of amino acid-induced glomerular hyperfiltration in humans // *Am J Physiol.* – 1991. – Vol.260, № 6. – P. 787–792.
399. Wakshlag J.J., Kallfelz F. A., Wakshlag R.R. et al. The Effects of branched-chain amino acids on canine neoplastic cell proliferation and death // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – P. 2007–2010.
400. Walser M. Rationale and indications for the use of alpha-keto analogues. // *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* – 1984. – Vol. 8. – P. 37–41.
401. Wang X., Li W., Williams M. et al. Regulation of elongation factor 2 kinase by p90(RSK1) and p70 S6 kinase. // *EMBO J.* – 2001. – Vol. 20. – P. 4370–4379.
402. Wang T.J., Larson M.G., Vasan R.S. et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. // *Nat Med.* – 2011. – 17. – P. 448–453.
403. Weber F.L., Bagby B.S., Licate L. et al. Effects of branched-chain amino acids on nitrogen metabolism in patients with cirrhosis. // *Hepatology.* – 1990. – Vol. 11. – P. 942–950.
404. Weicker H., Strüder H.K. Influence of exercise on serotonergic neuromodulation in the brain. // *Amino Acids.* – 2001. – Vol. 20. – P. 35–47.
405. Wijekoon E.P., Skinner C., Brosnan M.E. et al. Amino acid metabolism in the Zucker diabetic fatty rat: effects of insulin resistance and of type 2 diabetes. // *Can J Physiol Pharmacol.* – 2004. – Vol. 82. – P. 506–514.
406. Xiao F., Huang Z., Li H. et al. Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK pathways. // *Diabetes.* – 2011. – Vol. 60. – P. 746–756.
407. Xu M., Nagasaki M., Obayashi M. et al. Mechanism of activation of branched-chain -keto acid dehydrogenase complex by exercise. // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2001. – Vol. 287. – P. 752–756.
408. Yamamoto T., Newsholme E.A. Diminished central fatigue by inhibition of the L-system transporter for the uptake of tryptophan. // *Brain Res Bull.* – 2000. – Vol. 52. – P. 35–38.
409. Yamauchi M., Takeda K., Sakamoto K. et al. Effect of oral branched chain amino acid supplementation in the late evening on the nutritional state of patients with liver cirrhosis. // *Hepatol Res.* – 2001. –

Vol. 21. – P. 199–204.

410. Yoshiji H., Noguchi R., Kitade M. et al. Branched-chain amino acids suppress insulin-resistance-based hepatocarcinogenesis in obese diabetic rats. // *J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 483–491.

411. Yoshiji H., Noguchi R., Ikenaka Y. et al. Combination of branched-chain amino acids and angiotensin-converting enzyme inhibitor suppresses the cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma: a randomized control trial. // *Oncol Rep.* – 2011. – Vol. 26. – P. 1547–553.

412. Yoshizawa F. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acid in vivo // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. – Vol. 313. – P. 417–422.

413. Young G.A., Swanepoel C.R., Croft M.R. et al. Anthropometry and plasma valine, amino acids and nutritional assessment of hemodialysis patients. // *Kidney Int.* – 1982. – Vol. 21. – P. 492–499.

414. Zhang D., Contu R., Latronico M.V. et al. mTORC1 regulates cardiac function and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. // *J Clin Invest.* – 2010. – Vol. 120. – 2805–2816.

415. Zhang Y., Guo K., LeBlanc R.E. et al. Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms. // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56. – P. 1647–1654.

416. Zhang Y., Kobayashi H., Mawatari K. et al. Effects of branched-chain amino acid supplementation on plasma concentrations of free amino acids, insulin, and energy substrates in young men. // *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* – 2011. – Vol. 57. – P. 114–117.

417. Zeng G., Nystrom F.H., Ravichandran L.V. et al. Roles for insulin receptor, PI3-kinase, and Akt in insulin-signaling pathways related to production of nitric oxide in human vascular endothelial cells. // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101. – P. 1539–1545.

418. Zhao Y., Hawes J., Popov K.M. et al. Site-directed mutagenesis of phosphorylation sites of the branched chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex. // *J Biol Chem.* – 1994. – 269. – P. 18583–18587.

419. Zoncu R., Efeyan A., Sabatini D.M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2011. – Vol. 12. – P. 21–35.

Научное издание

Шейбак Владимир Михайлович

**ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН, ВАЛИН:
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СРЕДСТВ**

Монография

Ответственный за выпуск: В.В. Зинчук

Компьютерная верстка С.В. Петрушина
Корректор Л.С. Засельская

Подписано в печать 14.10.2014 .
Формат 60х84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 14,18. Уч.-изд. л. 11,52. Тираж 70. экз. Заказ 115.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно