

ВЛИЯНИЕ НАГРУЗКИ ФЕНИЛАЛАНИНОМ НА АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫСЯТ

Е.В. Севко; В.Ю. Смирнов, к.б.н.; В.М. Шейбак, д.м.н.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследовано содержание свободных аминокислот и их азотсодержащих метаболитов в плазме крысят через 1 ч после однократного введения фенилаланина в дозе 100 мг/кг массы. Обнаружено повышение уровней ароматических аминокислот с тенденцией снижения концентраций нейтральных аминокислот (глицин, валин, лейцин, изолейцин). На фоне нагрузки фенилаланином в организме животных выявлена быстрая наработка тирозина.

Ключевые слова: фенилаланин, тирозин, плазма крови, свободные аминокислоты.

The content of amino acids and nitrogen-containing metabolites in rat's plasma one hour following a single-dose 100mg/kg phenylalanine administration has been investigated. The increase in aromatic amino acids levels having the tendency to decrease the concentration of neutral amino acids (glycine, valine, leucine, isoleucine) have been found. A rapid tyrosine synthesis in the animals has been documented in phenylalanine concentration.

Key words: phenylalanine, blood plasma, free amino acids, aromatic amino acids.

Аминокислотный дисбаланс возникает при недостаточном поступлении одной из незаменимых аминокислот, нескольких аминокислот или при чрезмерном поступлении в организм одной из них. Изменение физиологической концентрации одной из аминокислот (чаще всего из числа незаменимых) является причиной возникновения аминокислотного дисбаланса в тканях организма. Одним из характерных признаков аминокислотного дисбаланса является снижение концентрации лимитирующей аминокислоты в плазме [1, 8, 9, 13, 16]. Как правило, наиболее универсальной реакцией организма является торможение синтеза белка в мышцах и снижение скорости роста молодых животных [5]. Подобная ситуация возможна при повышенной эндогенной утилизации одной из аминокислот, даже если она является заменимой.

Аминокислотный дисбаланс формируется очень быстро и проявляется физиологически необоснованной конкуренцией с аминокислотами за транспортные белки в кишечнике, реабсорбцию в почечных канальцах [15], или транспорт через мембрану, включая гематоэнцефалический барьер. Одним из признаков дисбаланса является повышенная экспрессия специфических ферментов деградации определенных аминокислот. Так, быстрое снижение концентрации фенилаланина может быть результатом усиленной его утилизации ферментами, включая фенилаланингидроксилазу (КФ 1.14.16.4), как механизм повышенной универсальной деградации избытка вводимых аминокислот [2]. Еще одной парадоксальной возможностью ликвидации аминокислотного дисбаланса является повышенный синтез белка. Так, доказано, что дисбаланс незаменимых аминокислот стимулирует синтез белка в печени [7].

Поступающие в организм ароматические аминокислоты в основном используются для синтеза белка. Их количество, необходимое для синтеза нейротрансмиттеров и других биологически активных соединений, незначительно. Минимальная потребность в фенилаланине, оцениваемая в присутствии избытка тирозина, составляет 9,1 мг/кг/сутки. Общая потребность в ароматических аминокислотах 33 мг/кг/сутки. Тирозин, помимо участия в синтезе белков, является предшественником катехоламинов и тиреоидных гормонов. Избыток пищевого тирозина может уменьшать потребность в фенилаланине для нужд белкового синтеза и заменить до 78% пище-

вого фенилаланина. Оптимальное соотношение в рационе фенилаланина и тирозина составляет 3/2.

Целью данной работы явилось определение степени аминокислотного дисбаланса, возникающего после однократной нагрузки фенилаланином.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 16 белых крысках обоего пола в возрасте 1 мес., массой 45–60 г, которым однократно внутрибрюшинно вводили фенилаланин в дозе 100 мг/кг массы или эквивалентное количество 0,9% раствора NaCl. Через 1 ч после инъекции животных декапировали и в безбелковых образцах плазмы крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли концентрации свободных аминокислот и их производных. Математическую обработку полученных результатов производили параметрическим методом с помощью программы «Statistica 6,0».

Результаты и их обсуждение

Анализ пула свободных аминокислот плазмы крови крысят, получивших фенилаланин, выявил увеличение суммарного количества ароматических аминокислот в 1,8 раза. Это сопровождается отсутствием достоверных изменений общего количества свободных аминокислот и их производных, а также относительного содержания незаменимых аминокислот. В аминокислотном пуле повышается доля ароматических аминокислот и снижается коэффициент соотношения аминокислот с разветвленной углеродной цепью (АРУЦ)/ароматические аминокислоты (ААК) (табл. 1). Введенный фенилаланин быстро метаболизируется, об этом свидетельствует снижение коэффициента соотношения фенилаланин/тирозин с 1,23 до 0,80 ($p < 0,001$). Остальные показатели, характеризующие структуру аминокислотного пула, существенно не изменились (табл. 1).

Изменения аминокислотного профиля плазмы крысят через 1 ч после введения фенилаланина проявились двукратным повышением концентрации фенилаланина и 3-кратным – тирозина. В плазме увеличилось количество циркулирующего восстановленного глутатиона и цистеиновой кислоты, а также производных аминокислот – 1-метилгистидина, 3-метилгистидина и аминокислоты адипиновой кислоты. Напротив, содержание одного из предшественников трипептида глутатиона – глицина и компонента фосфолипидов – фосфоэтаноламина снижалось.

Таблица 1 – Структура пула свободных аминокислот и их производных в плазме крови крысят через 1 ч после внутрибрюшинного введения фенилаланина в дозе 100 мг/кг массы

Показатели	Контрольная группа	Фенилаланин
Сумма аминокислот, нмоль/мл	4132±184	4112±188
Незаменимые аминокислоты, нмоль/мл	1250±94	1465±163
Незаменимые аминокислоты (%)	30,1±1,5	35,4±3,0
Заменимые аминокислоты, нмоль/мл	2459±127	2292±136
Заменимые аминокислоты (%)	59,6±1,8	56,0±2,9
Заменимые/Незаменимые аминокислоты	2,05±0,16	1,68±0,22
АРУЦ, нмоль/мл	427±27	399±39
АРУЦ (%)	10,3±0,4	9,7±0,7
АРУЦ % от незаменимых аминокислот	34,5±1,0	27,6±1,5**
Ароматические аминокислоты, нмоль/мл	169±9	316±21***
Ароматические аминокислоты (%)	4,09±0,15	7,64±0,17***
Ароматические (%) от незаменимых аминокислот	13,7±0,5	22,3±1,7***
Протеиногенные аминокислоты, нмоль/мл	3141±150	3020±133
Протеиногенные аминокислоты (%)	76,0±1,3	73,6±1,8
Непротеиногенные аминокислоты, нмоль/мл	995±69	1101±103
Непротеиногенные аминокислоты (%)	24,0±1,3	26,4±1,8
Протеиногенные / Непротеиногенные аминокислоты	3,26±0,24	2,86±0,28
АРУЦ/ААК	2,54±0,10	1,27±0,09***
Фенилаланин/Тирозин	1,23±0,06	0,80±0,06***
Глутамат/Глутамин	1,84±0,07	1,68±0,11
Сумма серосодержащих аминокислот, нмоль/мл	164±15	156±11

Примечание: при сравнении с контрольной группой: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Таблица 2 – Концентрации свободных аминокислот и их производных в плазме крови крысят через 1 ч после внутрибрюшинного введения фенилаланина в дозе 100 мг/кг массы

Аминокислоты, нмоль/мл	Контрольная группа	Фенилаланин
Аспарагиновая кислота	64,6±5,5	64,2±4,1
Глутаминовая кислота	480±32	512±24
Аспарагин	62,1±3,0	55,4±3,0
Серин	389±21	343±28
Глутамин	261±17	315±29
Гистидин	31,6±1,6	24,9±1,6*
Глицин	394±21	330±17*
Фосфоэтанолламин	19,5±1,7	12,0±1,0**
Треонин	113±14	120±32
Цитруллин	160±10	126±11*
Аргинин	93,9±3,8	94,8±5,9
β-аланин	5,66±0,56	6,69±0,35
Аланин	629±70	457±37
Таурин	130±13	116±8
□-аминомасляная кислота	0,14±0,01	0,17±0,02
ГАМК	0,72±0,10	0,49±0,04
Тирозин	54,7±3,9	164±21***
□-аминомасляная кислота	21,4±1,6	25,3±3,3
Этанолламин	10,4±1,1	11,8±0,4
Валин	172±10	164±10
Метионин	28,8±2,1	32,9±2,2
Цистатионин	5,04±0,69	5,84±0,60
Триптофан	47,7±2,8	54,5±3,4
Изолейцин	124±9	116±13
Фенилаланин	66,4±4,5	128±15***
Лейцин	130±9	118±10
Орнитин	70,6±4,6	61,5±2,9
Лизин	568±52	737±94
Цистеиновая кислота	2,00±0,07	3,62±0,12***
□-аминоадипиновая кислота	2,32±0,45	3,84±0,32*
1-метилгистидин	1,72±0,10	2,23±0,10**
3-метилгистидин	2,41±0,19	4,13±0,36**
Глутатион	1,17±0,08	4,79±0,21***

Примечание: при сравнении с контрольной группой: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Ниже контрольных значений регистрировались концентрации гистидина и цитрулина (табл. 2).

В плазме крысят контрольной группы регистрировались положительные корреляции между уровнями тирозина, фенилаланина и АРУЦ (табл. 3). После введения фенилаланина характер взаимоотношений этих соединений резко изменялся: исчезали корреляционные связи между тирозином, фенилаланином, с одной стороны, и АРУЦ – с другой (табл. 3). В то же время положительные корреляции между тирозином и фенилаланином сохранялись, как и внутри группы АРУЦ.

Таким образом, через 1 час после однократного внутрибрюшинного введения крысам фенилаланина в дозе 100 мг/кг сопровождается развитием аминокислотного дисбаланса, характеризующегося преобладанием ароматических аминокислот, снижением относительного количества АРУЦ (особенно больших нейтральных аминокислот), глицина и гистидина и появлением маркеров деградации мышечных белков – 1-метил- и 3-метилгистидина. Снижение содержания фосфоэтанолламина, а также коэффициента соотношения этанолламин/фосфоэтанолламин свидетельствуют о модификации экзогенным фенилаланином мембранных фосфолипидов, что может быть обусловлено его специфическими физико-химическими свойствами [3].

Таблица 3 – Коэффициенты корреляций между уровнями АРУЦ и ароматических аминокислот

Коррелируемые показатели		Контроль	Фенилаланин
Тирозин	Валин	0,53	0,47
Тирозин	Фенилаланин	0,80*	0,93*
Тирозин	Изолейцин	0,73*	0,08
Тирозин	Лейцин	0,67*	0,31
Валин	Фенилаланин	0,78*	0,29
Валин	Изолейцин	0,84*	0,82*
Валин	Лейцин	0,91*	0,93*
Фенилаланин	Изолейцин	0,73*	-0,16
Фенилаланин	Лейцин	0,79*	0,12
Изолейцин	Лейцин	0,86*	0,95*

* - достоверные значения r ($p < 0,05$).

Литература

1. Davis, A.T. Threonine metabolism of chicks fed threonine-imbalanced diets / A.T.Davis, R.E.Austic // J. Nutr. – 1982. – Vol. 112. – P. 2177–2186.
2. Davis, A.J. Dietary threonine imbalance alters threonine dehydrogenase activity in isolated hepatic mitochondria of chick and rats / A.J.Davis, R.E.Austic // J. Nutr. – 1994. – Vol. 124. – P. 1667–1677.
3. Fagone, P. Membrane phospholipid synthesis and endoplasmic reticulum function / P.Fagone, S.Jackowski // J. Lipid Res. – 2009. – Vol. 50. – P. S311–S316.

4. Fugh-Berman, A. Dietary supplements and natural products as psychotherapeutic agents / A. Fugh-Berman, J.M. Cott // *Psychosom. Med.* – 1999. – V. 61. – P. 712-728.
5. Harper, A.E. Amino acid imbalances, toxicities and antagonisms / A.E. Harper // *Nutr. Rev.* – 1956. – Vol. 14. – P. 225–227.
6. Hyland, K. Inherited disorders affecting dopamine and serotonin: critical neurotransmitters derived from aromatic amino acids / K. Hyland // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1568S-1572S.
7. Ip, C.C.Y. Liver polysome profiles and protein synthesis in rats fed a threonine-imbalanced diet / C.C.Y. Ip, A.E. Harper // *J. Nutr.* – 1974. – Vol. 104. – P. 252–263.
8. Keene, J.C. Dietary supplements of mixtures of indispensable amino acids lacking threonine, phenylalanine or histidine increase the activity of hepatic threonine dehydrogenase, phenylalanine hydroxylase or histidase, respectively, and prevent growth depressions in chicks caused by dietary excesses of threonine, phenylalanine, or histidine / J.C. Keene, R.E. Austic // *J. Nutr. Biochem.* – 2001. – Vol. 12. – P. 274–284.
9. Kumta, U.S. Amino acid balance and imbalance. IX. Effects of amino acid imbalance on blood amino acid pattern / U.S. Kumta, A.E. Harper // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1962. – Vol. 110. – P. 512–517.
10. Lartey, F.M. Phenylalanine hydroxylase activity and expression in chicks subjected to phenylalanine imbalance or phenylalanine toxicity / F.M. Lartey, R.E. Austic // *Poult. Sci.* – 2009. – Vol. 88. – P. 774-783.
11. Lu, J. Phenylalanine-pyruvate aminotransferase activity in chicks subjected to phenylalanine imbalance or phenylalanine toxicity / J. Lu, R. Austic // *Poult. Sci.* – 2009. – Vol. 88. – P. 2375-2381.
12. Matthews, D.E. An overview of phenylalanine and tyrosine kinetics in humans / D.E. Matthews // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1549S-1555S.
13. Park, B. Changes in hepatic branched-chain α -keto acid dehydrogenase activity in response to isoleucine imbalance in growing chickens / B. Park, R.E. Austic // *J. Nutr. Biochem.* – 1998. – Vol. 9. – P. 687–696.
14. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice / F.J. Spronsen [et al] // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2010. – Vol. 33, N6. – P. 671–676.
15. Webber, W.A. Interactions of amino acids in renal transport / W.A. Webber, J.L. Brown, R.F. Pitts // *Am. J. Physiol.* – 1961. – Vol. 200. – P. 380–386.
16. Yuan, J.H. Temporal response of hepatic threonine dehydrogenase in chickens to the initial consumption of a threonine-imbalanced diet / J.H. Yuan, A.J. Davis, Austic R. E. // *J. Nutr.* 2000. – Vol. 130. – P. 2746–2752.

Поступила 10.01.2012