

ТЕСТ-НАГРУЗКА СТАНДАРТИЗИРОВАННЫМИ СМЕСЯМИ АМИНОКИСЛОТ МОЖЕТ БЫТЬ ИСПОЛЬЗОВАНА ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА

Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет

Тест-нагрузки определенными субстратами (метаболитами) или их сочетанием – это группа методов, выявляющих недостаточности той или иной функциональной системы в организме, основанных на введении стандартной дозы соединения, метаболизм которого осуществляется по известным метаболическим путям и регулируется во многом изученными механизмами.

Так, нагрузочный тест с метионином разработан для того, чтобы диагностировать гетерозиготность по дефициту цистатионин- β -синтазы. В настоящее время тест используется для идентификации лиц с нарушенным метаболизмом гомоцистеина, в частности, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, у которых уровень общего гомоцистеина в плазме может быть нормальным [1].

Нагрузочный тест с аланином был разработан для контроля скорости катаболизма аланина и используют для оценки эффективности белкового питания. Нагрузка аланином, отражала активность трансаминирования, которая оценивается по последующей экскреции аминоазота или фракции мочевины плюс аммиак. Снижение количества или качества белка пищи уменьшает процент выделяемого с мочой азота [2].

Нагрузочный тест с фенилаланином используется с целью дифференциальной диагностики различных транзиторных форм гиперфенилаланинемии, осуществляется введением фенилаланина (180 мг/кг) [3].

Однако отсутствуют технологии, которые могут быть использованы для комплексного анализа особенностей межтканевого распределения и скорости метаболизма отдельных аминокислот.

Целью исследования явилось разработать нагрузочный тест для комплексной оценки состояния микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника, проницаемости кишечного барьера и, в конечном итоге, метаболической функции печени.

Материалы и методы. Тест-нагрузку проводили используя Инфезол40, который вводили крысам массой 120-140 г однократно

внутрижелудочно в дозе 20 мл/кг массы, что соответствует дозе 800 мг/кг массы смеси аминокислот (таблица). Декапитацию животных осуществляли через 10 мин, 20 мин, 30 мин или 45 мин, соответственно. Для анализа использовали микробно-тканевой комплекс тонкого кишечника, плазму крови и ткань печени [4]. Определение свободных аминокислот производили методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0.

Таблица. Содержание свободных аминокислот в растворе Инфезола 40 г/л (мкмоль/л)

Заменимые аминокислоты		Незаменимые аминокислоты	
Аспарагиновая кислота	2,0 (15025)	Треонин	1,6 (13432)
Глутаминовая кислота	5,0 (33984)	Валин	2,25 (19206)
Гистидин	1,35 (8701)	Метионин	1,75 (11728)
Глицин	7,0 (93251)	Триптофан	0,5 (2448)
Аргинин	4,55 (26119)	Фенилаланин	3,15 (19069)
Аланин	4,0 (44898)	Изолейцин	2,1 (16010)
		Лейцин	2,75 (20965)
		Лизин	2,0 (13681)

Результаты и обсуждение. Нами обнаружено, что после однократного внутрижелудочного введения Инфезола40 во все изучаемые сроки в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника увеличивается общее количество протеиногенных аминокислот, суммарное содержание заменимых и незаменимых аминокислот, в том числе аминокислот с разветвленной углеродной цепью (изолейцин, лейцин, валин), ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин), соотношения аргинин/орнитин, аргинин/цитруллин и суммы глутамат+глутамин. Тест-нагрузка Инфезолом здоровых животных характеризуется повышением в МТК тонкого кишечника концентраций заменимых аминокислот: глицина, аргинина и тирозина; незаменимых аминокислот триптофана и фенилаланина, а также уровней азот-содержащих производных

аминокислот - цистатионина и гидроксизина. При этом суммарное количество азот-содержащих метаболитов аминокислот, концентраций α -аминоадипиновой кислоты, β -аминомасляной кислоты, таурина и α -аминомасляной кислоты снижалось.

Функциональное состояние печени и особенности локализации ферментов, метаболизирующих аминокислоты, детерминирует плазменный пул свободных аминокислот в норме и патологии [5]. В ткани печени здоровых животных после внутрижелудочного введения Инфезола40 в течение 45 мин не обнаружено изменений общего количества протеиногенных аминокислот, однако, на этом фоне статистически значимо увеличивался уровень аргинина и повышалось соотношение аргинин/цитруллин, что может свидетельствовать об увеличении наработки оксида азота.

В плазме крови введение тест-дозы Инфезола увеличивает в течение 30 мин относительное количество протеиногенных аминокислот. В частности, во все изучаемые сроки были повышены концентрации метионина и фенилаланина. Следует также отметить, что уровень аспартата после введения Инфезола снижался в течение 45 мин, а концентрации некоторых содержащихся в Инфезоле40 аминокислот (валин, гистидин и лизин) не изменялись.

Анализируя полученные результаты, представляется важным определение колебаний основного метаболического гормона – инсулина, а также активности аланин- и аспартатаминотрансфераз, основных адаптивных ферментов метаболизма аминокислот. После введения Инфезола40 в течение 30 мин повышено содержание глюкозы в плазме крови, что неизбежно стимулирует секрецию инсулина и активацию синтеза белка. Это подтверждает выявленное нами снижение концентрации мочевины в плазме крови в эти временные интервалы. На протяжении всего эксперимента активность ферментов аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы не изменялась.

Таким образом, разработанный нагрузочный тест, позволяет проследить тканевое распределение экзогенно вводимых аминокислот и выявить особенности их метаболизма при экспериментально разрабатываемых патофизиологических состояниях. Представленная технология может быть использована при моделировании поражения различных органов/тканей при которых нарушается межорганный обмен азота и метаболизм отдельных аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Methionine loading test is necessary for detection of hyperhomocysteinemia. / R. van der Griend, F.J. Haas, M. Duran [at el.] // J Lab Clin Med. – 1998. Vol. 132., N1. – P.67-72.
2. Burnette, M.A. Oral amino acid load test of protein nutrition: effect of protein quantity and quality in the rat. / M.A. Burnette, M.J. Babcock // J Nutr. – 1978. – Vol. 108., N3. – P.465-474.
3. Phenylalanine loading as a diagnostic test for DRD: interpreting the utility of the test. / R. Saunders-Pullman, N. Blau, K. Hyland [at el.] // Mol Genet Metab. – 2004. – Vol. 83, N3. – P.207-212.
4. Динамика изменений концентраций свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе после введения животным Инфезола 40 / В.М. Шейбак, А.Ю. Павлюковец, В.Ю. Смирнов [и др.] // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 15., №4. – С. 386-391.
5. Шейбак, В. М. Лейцин, изолейцин, валин: биохимические основы разработки новых лекарственных средств: монография / В. М. Шейбак. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 242 с.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В РАННИЙ НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Шейбак Л.Н., Геращенко Н.В., Лукашик С.Д.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г.Гродно,
Гродненский областной клинический перинатальный центр*

Актуальность. Адаптация новорожденных детей во многом определяется степенью иммунологической защиты после рождения и адекватностью ответа на заселение микробной флорой. Важную роль в иммунном ответе при воздействии инфекционных и неинфекционных агентов играют интерфероны.

В настоящее время наблюдается высокая частота рождения детей, инфицированных внутриутробно и, соответственно, нередко встречается высокая или неадекватно низкая, иммунная реакция в ранний неонатальный период. Известно, что любые антигенные раздражители вызывают в организме автоматическое включение специальных программ адаптации независимо от характера раздражителя, по типу стресс-синдрома.

Известно, что одной из особенностей иммунных реакций новорожденного ребенка является пониженное содержание гамма–