

Левчук Л.В.¹, Бородулина Т.В.¹, Санникова Н.Е.¹, Данилова И.Г.²

Клиническое значение содержания свободных аминокислот для роста и развития детей

1 - ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург; 2 - ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург

Levchuk L.V., Borodulina T.V., Sannikova N.E., Danilova I.G.

The clinical importance of free amino acids content for children's physical growth and development

Резюме

Изучено содержание свободных аминокислот в сыворотке крови 57 детей дошкольного и младшего школьного возраста методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Найдено, что суммарное количество аминокислот достоверно выше у детей младшего школьного возраста: $822,794 \pm 37,456$ мкмоль/л и $985,502 \pm 41,025$ мкмоль/л ($p=0,0121$). Суммарное количество незаменимых аминокислот у всех детей соответствовало нормативным значениям и было в 1,44-1,38 раза выше, чем суммарное количество заменимых аминокислот ($p=0,0000$). Качественное распределение аминокислот значительно не отличалось у детей дошкольного и младшего школьного возраста. Обнаружено достоверное повышение суммарного количества свободных незаменимых аминокислот и аминокислоты валин у детей с хроническими заболеваниями. Выявленное снижение содержания лейцина, лизина, триптофана, фенилаланина, аргинина, глутаминовой кислоты, глицина, аланина, пролина могут являться причиной нарушений физического развития, изменять процессы возбуждения и торможения в центральной нервной системе, впоследствии нарушать экспрессию структурных и регуляторных генов.

Ключевые слова: незаменимые и заменимые аминокислоты, дети дошкольного и младшего школьного возраста, физическое развитие

Summary

The study of the concentration of free amino acids in the serum of 57 children of preschool and younger school age by high-performance liquid chromatography was completed. The total number of amino acids was significantly higher in children of younger school age: $822,794 \pm 37,456$ $\mu\text{mol/l}$ and $985,502 \pm 41,025$ $\mu\text{mol/l}$ ($p=0,0121$). Total number of essential amino acids corresponded to normative values and was 1.44-1.38 times higher than the total number of non-essential amino acids ($p=0,0000$). The distribution of amino acids did not significantly differ in children of preschool and younger school age. The significant increase in the total amount of the free essential amino acids and valin acid in children with chronic diseases was founded. The reduction in the content of leucine, lysine, tryptophan, phenylalanine, arginine, glutamic acid, glycine, alanine, proline was showed and it can cause the disorders of physical development, processes of excitation and inhibition in the central nervous system and disrupt the expression of structural and regulatory genes.

Key words: essential and non-essential amino acids, children, preschool and younger school age, physical development

Введение

Свободные аминокислоты служат предшественниками многих биологически активных соединений, выполняют самостоятельные функции, являясь активными нейромедиаторами, индукторами синтеза стероидных гормонов, стимуляторами пролиферативных процессов [2]. При стрессе, голодании, лихорадочных реакциях и интенсивной физической нагрузке аминокислоты включаются в энергетический обмен [1; 5; 8]. Дефицит серосодержащих аминокислот (метионин и цистеин) может быть признаком нарушения их всасывания в пищевари-

тельном тракте и пониженной устойчивости к оксидативному стрессу. Понижение концентрации метионина и тирозина сыворотки может регистрироваться при нарушениях белкового питания [7]. Основным белком соединительной ткани коллаген, в высоких концентрациях содержащийся в костной и мышечной ткани, богат аминокислотой пролин, потребность в которой высока в детском возрасте [6]. Аминокислота аргинин используется в организме как строительный и энергетический материал, а также функционирует как сигнальная молекула, так как в больших количествах входит в состав ядерных белков

протаминов и гистонов, играющих огромную роль в формировании структуры и регуляции функции генов [9]. Таким образом, заменимые и незаменимые аминокислоты являются важным звеном в регуляции процессов роста и физического развития и могут использоваться для ранней диагностики патологических состояний [4].

Цель исследования: определить количественный и качественный профиль свободных аминокислот в сыворотке крови и их взаимосвязь с физическим развитием детей дошкольного и младшего школьного возраста.

Материалы и методы

Нами проведен количественный и качественный анализ незаменимых и заменимых аминокислот в сыворотке крови 57 детей дошкольного и младшего школьного возраста. Дети были разделены на две группы: I - дети дошкольного возраста (30 человек, средний возраст - 5,9±0,2 лет), II - дети младшего школьного возраста (27 человек, средний возраст - 9,6±0,3 лет).

Содержание свободных аминокислот определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Протокол подготовки включала осаждение белков плазмы крови и дериватизацию аминокислот диметиламиноазобензол-сульфонил хлоридом. Хроматографическое

разделение аминокислот исследовали в градиентном режиме с использованием жидкостного хроматографа Клауер (Германия) со спектрофотометрическим детектором и колонкой LunaSuC18(2) (Phenomenex). Качественный анализ аминокислот в образцах крови проводили по времени выхода пиков стандартных растворов и опытных образцов крови. Концентрацию аминокислот в образцах крови определяли по площади пиков аминокислот с учетом площади пика и концентрации аминокислот в растворе стандарта.

Физическое развитие детей оценивалось в соответствии с международными стандартами ВОЗ (программа ANTHRO PLUS 1.0.4) с расчетом величины Z-score для показателей: масса тела, рост и индекс массы тела относительно возраста.

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 10.0».

Результаты и обсуждение

Методика высокоэффективной жидкостной хроматографии позволила разделить семь фракций незаменимых аминокислот (треонин, валин, метионин, лейцин, триптофан, фенилаланин, лизин) и семь фракций заменимых

Таблица 1. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови, ммоль/л

Аминокислоты	I группа (n=30)	II группа (n=27)	Референсные значения (Н.У. Тиц, 2003) 3 мес. - 6 лет 6 - 18 лет	P 1:2
	1	2		
<i>Незаменимые аминокислоты</i>				
Валин	212,349±11,613	226,637±10,425	128-283	0,3679
Треонин	144,911±6,537	184,422±10,895	42-95 74-202	0,0024
Лейцин	36,991±1,822	57,093±3,869	56-178 79-174	0,0000
Лизин	42,103±2,373	34,984±1,631	71-151 108-233	0,0189
Метионин	27,801±2,318	29,105±3,502	11-16 16-37	0,7530
Триптофан	13,035±0,553	21,922±1,672	24-79	0,0000
Фенилаланин	10,385±0,413	17,695±1,325	26-61 39-76	0,0000
Сумма	484,500±16,465	571,858±20,049	358-863 468-1084	0,0013
<i>Заменимые аминокислоты</i>				
Серин	128,398±6,217	178,898±14,606	79-112 71-181	0,0017
Аланин	57,274±2,310	79,403±5,104	117-223	0,0001
Аргинин	42,263±4,164	46,024±5,364	68-148 58-324	0,5779
Тирозин	41,627±1,891	43,947±1,462	23-86	0,3458
Пролин	34,353±1,891	33,454±3,191	137-305	0,8050
Глутаминовая кислота	14,311±0,869	21,889±1,640	23-250	0,0001
Глицин	18,268±0,768	16,029±1,062	44-72	0,0888
Сумма	336,494±12,203	413,644±24,834	491-1196 473-1441	0,0057
Соотношение заменимые/незаменимые	1,45	1,38	0,72-0,81	

Таблица 2. Распределение свободных аминокислот в сыворотке крови

Группы	Распределение свободных аминокислот
Все дети (n=57)	Валин > Треонин > Серин > Аланин > Лейцин > Аргинин > Тирозин > Лизин > Пролин > Метионин > Глутаминовая кислота > Триптофан > Глицин > Фенилаланин
Дошкольн. (n=30)	Валин > Треонин > Серин > Аланин > Аргинин > Лизин > Тирозин > Лейцин > Пролин > Метионин > Глицин > Глутаминовая кислота > Триптофан > Фенилаланин
Школьники (n=27)	Валин > Треонин > Серин > Аланин > Лейцин > Аргинин > Тирозин > Лизин > Пролин > Метионин > Триптофан > Глутаминовая кислота > Фенилаланин > Глицин

аминокислот (глутаминовая кислота, серин, глицин, аланин, пролин, аргинин, тирозин) в сыворотке крови. Суммарное количество аминокислот было достоверно выше у детей младшего школьного возраста: $822,794 \pm 37,456$ мкмоль/л у детей I группы и $985,502 \pm 41,025$ мкмоль/л у детей II группы ($p=0,0121$). Данные о содержании свободных аминокислот представлены в таблице 1.

При этом содержание общего белка и альбуминов в сыворотке крови соответствовало референсным значениям и составило, соответственно, $66,233 \pm 0,579$ г/л и $42,082 \pm 0,503$ г/л в I группе; $66,464 \pm 0,596$ г/л и $43,244 \pm 0,444$ г/л во II группе.

Изучение соотношения незаменимых и заменимых аминокислот позволило установить, что суммарное количество незаменимых аминокислот у всех детей соответствовало нормативным значениям и было в 1,44-1,38 раза выше, чем суммарное количество заменимых аминокислот ($p=0,0000$). При этом содержание аминокислот треонин и метионин было увеличено по сравнению с референсными значениями у детей I группы, что, возможно, свидетельствует об активно протекающих процессах синтеза белка и липидов у детей в период первого ростового скачка. В то же время, содержание аминокислот лейцин, лизин, триптофан, фенилаланин было снижено у всех детей. Выявленный дефицит указанных аминокислот может способствовать нарушению синтеза нейромедиаторов (серотонин, дофамин, норадреналин), гормонов щитовидной железы, процессов роста и клеточного метаболизма.

Суммарное количество заменимых аминокислот было снижено у детей I и II группы, по сравнению с референсными значениями. Большое клиническое значение имеет выявленное снижение аминокислоты аргинин, как сигнальной молекулы, входящей в состав многих белков организма. Снижение содержания глутаминовой кислоты и глицина имеет значение в нарушении синтеза тормозных нейромедиаторов. Также отмечено снижение содержания аланина и пролина, принимающих участие в процессах глюконеогенеза и регуляции роста.

У детей II группы увеличение суммарного количества незаменимых аминокислот и уровня глутаминовой кислоты, серина, аланина может быть связано с более интенсивным вовлечением данных метаболитов в обмен (глюконеогенез и синтез нейромедиаторов), в связи с активной интеллектуальной деятельностью и стрессовыми ситуациями в процессе обучения. Повышенный уровень аминокислоты серин косвенно указывает на активность процессов глюконеогенеза у детей I группы.

Качественное распределение аминокислот значимо не отличалось у детей дошкольного и младшего школьного возраста (табл. 2).

При проведении рангового корреляционного анализа взаимосвязи незаменимых и заменимых аминокислот, определяемых по их уровню в сыворотке крови, получены следующие данные (табл. 3).

По результатам корреляционного анализа обнаружены положительные сильные связи между незаменимыми аминокислотами лейцином, триптофаном и

Таблица 3. Показатели ранговой корреляции свободных аминокислот (метод Спирмена)

Показатели	n	Коэффициент корреляции	P
<i>Незаменимые аминокислоты</i>			
Лейцин - Триптофан	42	0,91	0,0000
Лейцин - Фенилаланин	42	0,90	0,0000
Триптофан - Фенилаланин	42	0,89	0,0000
Треонин - Фенилаланин	42	0,72	0,0000
Треонин - Триптофан	42	0,70	0,0000
Треонин - Лейцин	42	0,65	0,0000
Метионин - Лизин	42	- 0,31	0,0440
<i>Заменимые аминокислоты</i>			
Аланин - Тирозин	42	0,70	0,0000
Серин - Тирозин	42	0,60	0,0000
Аланин - Глутаминовая кислота	42	0,54	0,0002
Аланин - Серин	42	0,53	0,0003
Аланин - Аргинин	42	0,53	0,0003
Аргинин - Тирозин	42	0,43	0,0043
Аланин - Пролин	42	0,38	0,0141
Серин - Аргинин	42	0,32	0,0377

<i>Незаменимые и заменимые аминокислоты</i>			
Триптофан - Аланин	42	0,86	0,0000
Фенилаланин - Аланин	42	0,85	0,0000
Лейцин - Аланин	42	0,81	0,0000
Треонин - Аланин	42	0,72	0,0000
Треонин - Серин	42	0,65	0,0000
Фенилаланин - Тирозин	42	0,60	0,0000
Треонин - Тирозин	42	0,59	0,0000
Триптофан - Глутаминовая кислота	42	0,59	0,0000
Лейцин - Глутаминовая кислота	42	0,58	0,0000
Фенилаланин - Глутаминовая кислота	42	0,54	0,0002
Треонин - Глутаминовая кислота	42	0,52	0,0004
Лейцин - Тирозин	42	0,49	0,0009
Лизин - Глицин	42	0,48	0,0011
Триптофан - Тирозин	42	0,46	0,0020
Треонин - Аргинин	42	0,45	0,0025
Лизин - Тирозин	42	0,45	0,0027
Триптофан - Серин	42	0,44	0,0040
Триптофан - Аргинин	42	0,44	0,0033
Фенилаланин - Аргинин	42	0,42	0,0063
Лейцин - Серин	42	0,41	0,0066
Лейцин - Аргинин	42	0,37	0,0165
Триптофан - Пролин	42	0,33	0,0338

Таблица 4. Показатели ранговой корреляции свободных аминокислот и антропометрических показателей (метод Спирмена)

Показатели	n	Коэффициент корреляции	P
Лейцин - рост	34	0,55	0,0000
Триптофан - рост	34	0,63	0,0000
Фенилаланин - рост	34	0,63	0,0000
Аланин - рост	34	0,44	0,0094
Треонин - рост	34	0,43	0,0123
Глутаминовая кислота - рост	34	0,40	0,0159
Триптофан - Z-score рост/возраст	24	0,49	0,0148
Лейцин - Z-score рост/возраст	24	0,43	0,0367
Фенилаланин - Z-score рост/возраст	24	0,41	0,0486

фенилаланином ($r=0,89-0,91$, $p<0,0000$); между незаменимыми и заменимыми аминокислотами триптофаном, аланином, фенилаланином, лейцином (изолейцином) ($r=0,81-0,86$, $p<0,0000$). Между отдельными незаменимыми аминокислотами (треонин, фенилаланин, триптофан, лейцин (изолейцин)) ($r=0,65-0,72$, $p<0,0000$), отдельными заменимыми аминокислотами (аланин, тирозин, серин, глутамин, аргинин, пролин) ($r=0,32-0,70$, $p<0,05$), а также между незаменимыми и заменимыми аминокислотами установлены положительные статистически значимые связи средней силы ($r=0,33-0,72$, $p<0,05$). Отрицательная статистически значимая связь средней силы зарегистрирована между метионином и лизином ($r=-0,31$, $p=0,0440$).

Изучено содержание свободных аминокислот у детей младшего школьного возраста с хроническими заболеваниями (7 человек, 29,5%): хронический тонзиллит ($n=3$), хронический пиелонефрит ($n=2$), целиакия ($n=1$), нейродермит ($n=1$). Установлено, что дети, страдающие хроническими заболеваниями, имели достоверно более высокое суммарное количество незаменимых аминокислот по сравнению с детьми без хронической патологии ($633,751\pm 33,240$ мкмоль/л и $528,934\pm 33,830$ мкмоль/л,

$p=0,0235$). У них также выявлено повышение содержания аминокислоты валин ($288,317\pm 16,894$ мкмоль/л и $196,187\pm 9,782$ мкмоль/л, $p=0,0001$), что, возможно, является компенсаторной реакцией. Известно, что валин принимает участие в поддержании нормального обмена азота, в процессе роста и синтезе тканей организма, является источником энергии в мышечных клетках [3].

Нами зарегистрированы положительные статистически значимые связи средней силы между отдельными аминокислотами и показателями физического развития (табл. 4).

В сыворотке крови детей с избыточной массой тела обнаружено повышение содержания аминокислоты валин ($276,373\pm 373$ мкмоль/л) по сравнению с детьми со средней массой тела ($206,486\pm 9,356$ мкмоль/л, $p=0,0085$). При отставании в росте у детей выявлено снижение содержания метионина: $23,034\pm 1,761$ мкмоль/л и $34,834\pm 4,402$ мкмоль/л при среднем росте ($p=0,0190$). Метионин необходим для синтеза фосфолипидов, обладает липотропным действием, участвует в реакциях дезаминирования, трансметилирования, декарбоксилирования, модулирует эффект витаминов и гормонов, активирует действие ферментов и белков [3].

Таким образом, выявленные количественные и качественные особенности содержания свободных аминокислот могут иметь значение в патогенезе нарушений обмена веществ и физического развития детей.

Выводы

1. Интенсивные процессы роста и обмена веществ у детей сопровождаются увеличением общего количества незаменимых аминокислот; у детей дошкольного возраста повышение суммарного количества свободных аминокислот и отдельных незаменимых аминокислот (треонин и метионин) отражает высокую потребность в пластическом материале в периоде первого ростового сдвига.

2. При хронических заболеваниях отмечается достоверное увеличение количества свободных незаменимых аминокислот, свидетельствующее об имеющемся, по-видимому, компенсаторном механизме восполнения повышенной потребности организма в полноценном животном белке и незаменимых аминокислотах.

3. Выявленное снижение содержания лейцина, лизина, триптофана, фенилаланина, аргинина, глутаминовой

кислоты, глицина, аланина, пролина является фактором риска нарушений физического развития, возбуждения и торможения в центральной нервной системе, экспрессии структурных и регуляторных генов. ■

Левчук Лариса Васильевна, к.м.н., доцент кафедры факультетской педиатрии и пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург; Санникова Наталья Евгеньевна, д.м.н., профессор кафедры факультетской педиатрии и пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург; Бородулина Татьяна Висторовна, д.м.н., заведующая кафедрой факультетской педиатрии и пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург; Данилова Ирина Георгиевна, д.б.н., заведующая кафедрой медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Левчук Лариса Васильевна, 620102, г. Екатеринбург, ул. Белореченская, дом 24, корпус 1, кв. 24., 8-922-29-86-174, e-mail: larisalevchuk@yandex.ru

Литература:

1. Горина А.С., Колесниченко Л.С. Аминокислоты сыворотки крови и мочи у детей с синдромом Аспергера. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 7: 69-73.
2. Донос А.А., Гараева С.Н., Леорда А.И. Профиль свободных аминокислот в сыворотке крови как показатель иммунного статуса часто болеющих детей и детей с острой пневмонией. *Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). Медицинские науки*. 2015; 12 (21): 60-63.
3. *Клиническое руководство по лабораторным тестам*. Под ред. Н.У Тица; пер. с англ. Москва: ЮНИМЕД-пресс; 2003. 960 с.
4. Левчук Л.В., Санникова Н.Е., Бородулина Т.В. Особенности физического развития и микронутриентной обеспеченности детей дошкольного и младшего школьного возраста. *Материалы X международной научно-практической конференции «Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований»*. 7-8 ноября 2016 г. North Charleston, USA; том 2: 22-25.
5. Шульга И.М., Безроднова С.М. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови у детей, под-
ростков с недостаточностью питания и больных туберкулезом. ISSN 2308-4804. *Science and world*. 2014; 1 (5): 355-358.
6. Collier S.R., Casey D.P., Kanaley J.A. Growth hormone responses to varying doses of oral arginine. *Kanaley Growth Horm IGF Res*. 2005; Apr. 15(2): 136-139.
7. James S.J., Melnyk S., Jernigan S., et al. Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet*. 2006; Vol. 5(8): 947-956.
8. Kałuzna-Czapłinska J., Michalska M., Rynkowski J. Determination of tryptophan in urine of autistic and healthy children by gas chromatography/mass spectrometry. *Med Sci Monit*. 2010; Vol. 16(10): 488-492.
9. Wu G., Bazer F.W., Burghardt R.C., Johnson G.A., Kim S.W., Knabe D.A., Li P., Li X., McKnight J.R., Satterfield M.C., Spencer T.E. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; Apr. 40(4): 1053-1063.