

УРОВЕНЬ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПОСЛЕ СПОРТИВНОЙ ТРАВМЫ

А.И. Мазур, А.В. Наумов, В.Ю. Смирнов

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследовано содержание свободных аминокислот и их метаболитов в сыворотке крови здоровых и травмированных спортсменов, получивших первичную спортивную травму различной степени тяжести. Изучено влияние травматического повреждения у спортсменов на уровень белкового обмена. Показано достоверное ($p < 0,05$) изменение уровня свободных аминокислот и их производных в сыворотке крови травмированных спортсменов по сравнению с группой контроля. Имеют место признаки активации анаболических процессов, активации процессов синтеза энергии и коллагена, синтеза и распада мембран, стабилизации нервной системы после травмы у спортсменов.

Ключевые слова: спортивная травма, аминокислоты, сыворотка крови.

Введение

Несмотря на доказанную значительную роль аминокислот (АК) в спорте, их важную роль как в тренировочном, соревновательном, так и в восстановительном периоде у спортсменов, до сих пор в научной литературе недостаточно данных об их обмене при травмах и тяжёлых физических нагрузках [7; 9].

Так, до сих пор не найдены надёжные биохимические маркёры травм, однако ряд авторов отмечают изменения в соотношении некоторых АК при тех или иных патологических состояниях, включающих различные виды травматических повреждений [4; 25].

Спортивный травматизм устойчиво входит в пятёрку в общей структуре травматизма во всём мире [18]. В нашей стране он уступает лишь бытовым, уличным и детским травмам. Частота спортивных травм составляет примерно 5-7%. Это довольно много. Но, если принять во внимание, что данный показатель относится лишь к тем, кто обратился в клинику или к врачу, то цифра реального травматизма становится значительно большей: примерно каждый пятый спортсмен получает травмы. Ну а если учесть обычные кровоподтёки, характерные для многих видов спорта, то этот показатель может превышать отметку в 50%. Всё зависит от конкретного вида спорта.

Целью данного исследования явилось определение содержания в сыворотке крови здоровых и травмированных спортсменов концентрации свободных аминокислот, их производных и метаболитов, а также изучение влияния травматического повреждения на данные показатели белкового обмена.

Материалы и методы

В основную группу ($n=53$) вошли спортсмены, обратившиеся на приём к травматологу ГУ «Областной диспансер спортивной медицины» г. Гродно по поводу первичной спортивной травмы. Средний возраст составил $17,2 \pm 5,1$ лет, из них юношей 32 (60,4%), девушек 21 (39,6%). Детей (до 18 лет) было 41 человек (77,4%), взрослых – 12 (22,6%).

Повреждение связок диагностировалось у 32 спортсменов (60,4%), ушибы у 10 (18,9%), переломы у 8 (15,1%), повреждение менисков коленного сустава у 3 (5,7%). По локализации больше всего травм приходилось на нижние конечности, 56,6%. Из них на голеностопный сустав – 15 (28,3%), коленный сустав – 9 (17%). Травмы верхних конечностей были у 43,4% обследованных спортсменов. Больше всего было травм кисти – 8 (15,1%) и плечевого сустава – 5 (9,4%). По тяжести преобладали травмы средней степени – 31 (58,5%), лёгких – 15 (28,3%), тяжёлых – 7 (13,2%).

Из них баскетболистов – 8 человек; футболистов и

гандболистов – по 7; хоккей с шайбой – 5; дзюдо – 4; волейболисты, вольные борцы – по 3; лёгкая атлетика, хоккей на траве, карате, тхэквондо – по 2, греко-римская борьба, бокс, кикбоксинг, прыжки в воду, пулевая стрельба, теннис, фехтование, шорт-трек – по 1. По квалификации преобладали спортсмены без разряда – 31 (58,5%), первый взрослый разряд имели 7 атлетов (13,2%), мастера спорта – 5 (13,2%), кандидаты в мастера спорта – 4 (7,5%), второй взрослый и первый юношеский разряды – по 2 человека (по 3,8%) и другие – 2 (3,8%).

Диагноз устанавливался на основании выяснения анамнеза травмы, клинического обследования, общего осмотра и локального статуса, специальных методов клинического исследования и диагностики (Рентгенография повреждённых конечностей, УЗИ суставов, МРТ и др.). Взятие крови производилось в день обращения спортсмена, в сроки от 5 до 48 часов (в среднем около 24 часов) с момента получения травмы.

Контрольную группу составили 39 практически здоровых спортсменов – учащихся УО «Училище Олимпийского резерва» г. Гродно, которая была подобрана эквивалентно основной группе по возрасту, полу и квалификации спортсменов. Средний возраст: $16,0 \pm 2,0$ года, юношей – 20 (51,3%), девушек – 19 (48,7%). На момент исследования 18 лет исполнилось 4 спортсменам (10,3%), дети до 18 лет – 35 человек (89,7%). Из них баскетболистов – 14, легкоатлетов – 9, тяжелоатлетов – 8, пловцов – 8. По квалификации: кандидаты в мастера спорта – 10 человек (25,6%), без разряда – 10 (25,6%), первый взрослый разряд – 7 (17,9%), второй взрослый – 6 (15,4%), первый юношеский – 3 (7,7%), мастера спорта – 2 (5,1%), третий взрослый разряд – 1 (2,6%). Кровь у спортсменов контрольной группы забиралась натощак во время прохождения планового медицинского осмотра в ГУ «ОДСМ» г. Гродно.

Сыворотка получалась путём центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут (центрифуга ОПН 3) и отбиралась аспирацией. Определялась концентрация 1-метилгистидина (1MHis), 3-метилгистидина (3MHis), б-амино-адипиновой кислоты (aAAA), б-аминомасляной кислоты (aABA), в-аланина (bAla), в-аминомасляной кислоты (bABA), г-аминомасляной кислоты (GABA), Аланина (Ala), Аргинина (Arg), Аспарагина (Asn), Аспартата (Asp), Валина (Val), Гидроксипролина (HPro), Гистидина (His), Глицина (Gly), Глютамина (Gln), Глютаминной кислоты (Glu), Изолейцина (Ile), Лейцина (Leu), Лизина (Lys), Метионина (Met), Орнитина (Orn), Пролина (Pro), Саркозина (Sar), Серина (Ser), Таурина (Tau), Тирозина (Tyr), Треонина (Thr), Триптофана (Trp), Фенилаланина (Phe), Фосфозаноламина (PEA), Цистати-

онина (Ctn), Цистеиновой кислоты (CA), Цитрулина (Citr), Этанолamina (EA) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографической системе Agilent 1100 с детектированием флуоресценции. Идентификация определяемых соединений и количественная обработка хроматограмм проводилась с использованием метода внутреннего стандарта (ванилиновой кислоты) с помощью программы Agilent ChemStation A 10.01 [1].

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. Нормальность распределения оценивалась с использованием критерия Шапиро-Уилка. Уровень достоверности при сравнении двух независимых групп с ненормальным распределением значений количественных признаков оценивали с применением непараметрического метода – критерия Манна-Уитни. Определялось значение медианы, а также 25-й и 75-й квартилей [2].

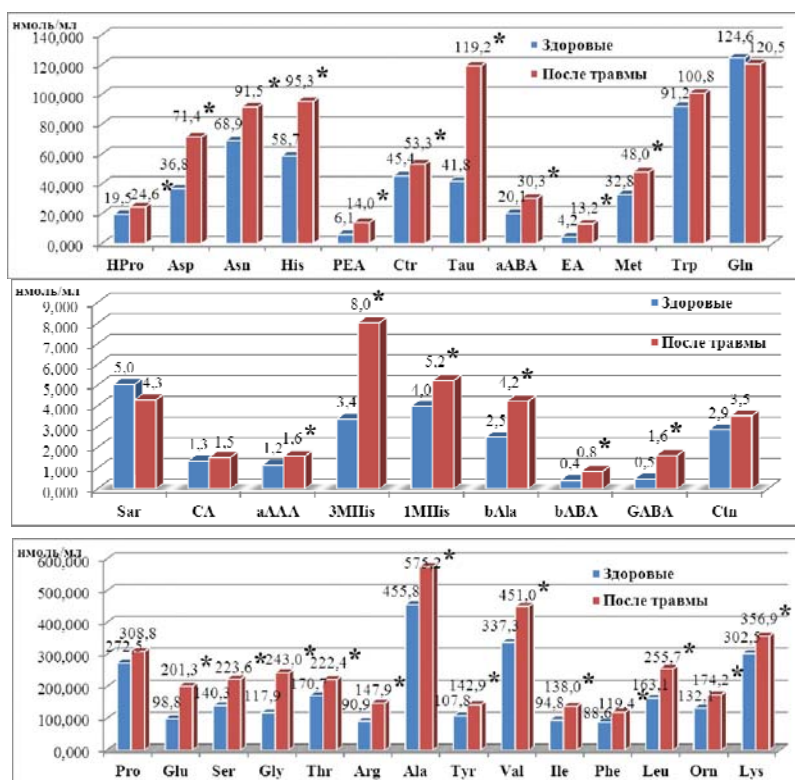
Результаты и обсуждение

Нами не было выявлено статистически достоверных различий в уровне азотистого обмена у спортсменов в зависимости от квалификации, пола и возраста как в контрольной, так и в основной группе. Анализ пула свободных аминокислот показал, что в сыворотке крови травмированных спортсменов наблюдается статистически достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня 29 из исследуемых 35 показателей (рис. 1-3). Так, достоверно не изменились только уровни Саркозина, Цистеиновой кислоты, Цистатионина, Триптофана, Глютамина и Проллина по сравнению с контрольной группой. По всем остальным показателям наблюдалось достоверное увеличение концентрации аминокислот и их производных у спортсменов, что расходится с данными некоторых авторов, которые отмечали признаки гипоаминоацидемии после травматического повреждений различного генеза [19; 20].

Учитывая данную динамику общего содержания АК, нами была выдвинута гипотеза о возможных волномигических изменениях в организме спортсменов, подвергшихся травме, в связи с известным изменением гормонального фона: повышением уровня альдостерона, предсердного натрийуретического пептида, ангиотензина II, и снижением уровня натрия, осмотического потенциала сыворотки крови, что привело к потере воды и общему сгущению крови [13; 22]. Данное предположение частично подтверждает практически трехкратное повышение уровня Таурина, который, кроме всего прочего, является существенным осмолитом [5; 24].

Исходя из этого, некорректно рассматривать достоверное повышение уровня каждого из показателей АК их предшественников и метаболитов в отдельности. Чтобы нивелировать возможное влияние сгущения крови, был проведён анализ изменения концентрации исследуемых АК, после травмы в процентах, относительно их исходного уровня (рис. 5-7). Так как структура выборки оказалась не однородной, для анализа использовали медиану, а также был сформирован 95% доверительный интервал с использованием 25 и 75-й квартилей (рис. 4). Предполагается, что не вошедшие в доверительный ин-

тервал уровни АК с 95% вероятностью достоверно изменились.



Примечание: * – ($p < 0,05$)

Рис. 1-3. Аминокислоты и их производные в сыворотке крови у спортсменов

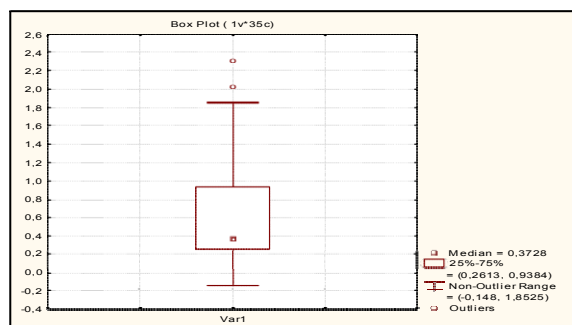


Рис. 4. Изменение уровня аминокислот после травмы, в процентах

В среднем уровни всех АК повысились на 37% [26%; 94%] (рис. 4). При этом незаменимые АК повысились в среднем на 34%, уровень заменимых АК повысился на 59%. Как видно на рисунках 5 и 6, где (МО) – общая медиана для уровня повышения всех АК, а (М) – медиана для незаменимых/ заменимых АК. Пунктирная линия на рисунках 5-7 обозначает границы 95 процентного доверительного интервала 26,1% и 93,8%, соответственно. Звёздочкой (*) помечены АК, выходящие за пределы доверительного интервала.

Концентрация Триптофана достоверно не изменилась, а учитывая то, что он не вошёл в 95% доверительный интервал, можно говорить, что она существенно ниже относительно общего повышения всех исследуемых аминокислот. Это может косвенно указывать на вы-

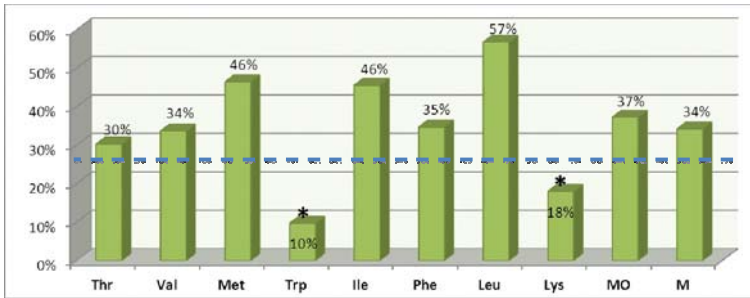


Рис. 5. Изменение уровня незаменимых аминокислот после травмы

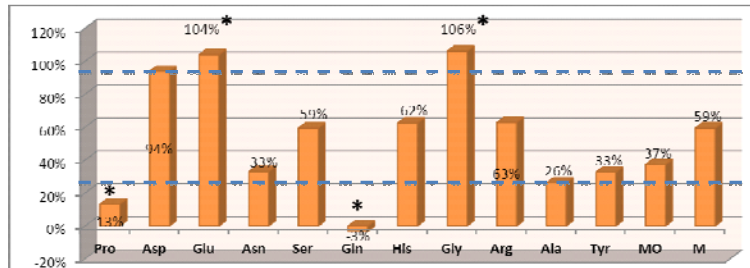


Рис. 6. Изменение уровня заменимых аминокислот после травмы

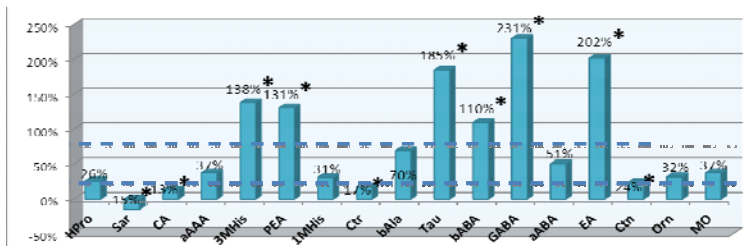


Рис. 7. Изменение уровня непротеиногенных аминокислот и метаболитов после травмы

сокий расход его как, например, предшественника серотонина. В литературе показано, что при травме увеличивается наработка серотонина и снижается концентрация триптофана [3; 8; 17].

Относительно низкое содержание Лизина и Проллина после травмы может свидетельствовать об активации процессов заживления, регенерации и синтеза коллагена, так как эти АК задействованы в его структуре [21].

Концентрация Глутамата также достоверно не изменилась – что может говорить об активации процессов дезаминирования с его участием – признаки положительного азотистого баланса у спортсменов даже после травмы [5].

Цитруллин не вошёл в доверительный интервал. Снижение его концентрации коррелирует со снижением уровня мочевины, что также свидетельствует о преобладании анаболических процессов.

Повышенный уровень Глутамата вдвое говорит о том, что происходит перераспределение энергетических затрат. Данная АК является транспортной формой, для того чтобы в тканях из него синтезировался б-кетоглутарат – непосредственный элемент цикла Кребса и источник синтеза АТФ [12].

То же можно сказать и про увеличение в два раза концентрации Глицина – основу для синтеза метилен-4-гидрофолата, идущего на синтез пуриновых оснований для ДНК и РНК [26].

Аспарат, находясь на верхней границе доверитель-

ного интервала, также может свидетельствовать об активации процессов синтеза энергии, так как образующаяся при его дезаминировании щавелевоуксусная кислота является первым субстратом в ЦТК [7; 12; 25].

Г-аминомасляная кислота является торпозным медиатором и, вероятно, нарабатывается с целью стабилизации нервной системы в стрессовой ситуации, вызванной травмой. Её уровень повысился более чем в три раза, на 231%, что полностью коррелирует с литературными данными [11; 16; 25].

Этанолламин – это показатель синтеза клеточных мембран, в то же время, Фосфоэтанолламин – продукт их распада. Значительное их повышение (на 202% и 131%, соответственно) в сыворотке крови после травмы, может свидетельствовать об активации обоих процессов.

3-метилгистидин – метаболит гистамина, одного из медиаторов воспаления, его концентрация в сыворотке увеличилась на 138%.

Уровень Таурина увеличился почти трёхкратно (на 185%). Эта серосодержащая АК является производным Гомоцистеина и Цистеина и выполняет множество функций. Его повышение мы связываем с его осмотическими свойствами, а также функциями нейромедиатора и антиоксиданта [6; 10; 11; 12; 14; 15; 16; 23; 25; 27; 28].

Уровень Цистаголина находится на нижней границе доверительного интервала. Снижение его концентрации коррелирует с повышением уровня Таурина, так как он расходуется на синтез его предшественника – Цистеина, уровень которого также достоверно ниже.

Этим можно объяснить и снижение уровня Цистеиновой кислоты – продукта распада

Цистеина, низкий уровень Саркозина – метаболита Диметилглицина, вещества, образующегося из Бетаина при синтезе АК Метионина из Гомоцистеина. Снижение концентрации Саркозина (на 15%), косвенно указывает на активацию синтеза Таурина из Гомоцистеина, а не Метионина.

Выводы

1. Показано достоверное изменение уровня свободных аминокислот и их производных в сыворотке крови травмированных спортсменов по сравнению с группой контроля в сторону их увеличения в среднем на 37%. Это может быть связано с волевыми изменениями, что следует учитывать при определении концентрации всех метаболитов в сыворотке с учётом изменения объёма крови.

2. Имеют место признаки активации анаболических процессов, и преобладания их над катаболическими – признаки положительного азотистого баланса: угнетение цикла синтеза мочевины (снижение концентрации Глутамата, Цитруллина и Орнитина).

3. Повышение уровня энергетических субстратов в сыворотке крови (Глутамата, Аспартата и Глицина) свидетельствует об активации процессов синтеза энергии после травмы у спортсменов.

4. Снижение концентрации предшественников коллагена (Проллина и Лизина) свидетельствует об активации синтеза этого ключевого белка в соединительной ткани.

5. Показана также активация процессов распада и компенсаторного синтеза клеточных мембран за счёт повышения в сыворотке уровней Этаноламина и Фосфоэтаноламина.

6. Выявлены признаки стабилизации нервной системы после травмы у спортсменов (повышение уровня гамма-аминомасляной кислоты и наработка метаболитов гистамина и серотонина).

Список использованной литературы

1. Дорошенко Е.М. Характеристика фонда биогенных аминов и нейротропных аминокислот при экспериментальной гиперлипидемии у крыс и эффекты таурина / Е.М. Дорошенко, И.И. Климович, В.Ю. Смирнов // Аминокислоты и их производные в биологии и медицине: материалы II Междунар. науч. конф., Гродно 10–12 октября 2001 г. / Гродно, –2001. – С. 37.
2. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: «МедиаСфера». – 2002. – 312 с.
3. Abbott FV, Young SN. The effect of tryptophan supplementation on autotomy induced by nerve lesions in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1991 Oct; 40(2):301-4.
4. Askana zi J, Furst P, Michelsen CB, Elwyn DH, Vinnars E, Gump FE, Stinchfield FE, Kinney JM. Muscle and plasma amino acids after injury: hypocaloric glucose vs. amino acid infusion. *Annals of surgery* 1980 Apr; 191(4):465-72.
5. Boelens PG, Houdijk AP, de Thouars HN, Teerlink T, van Engeland MI, Haarman HJ, van Leeuwen PA. Plasma taurine concentrations increase after enteral glutamine supplementation in trauma patients and stressed rats. *The American journal of clinical nutrition* 2003 Jan; 77(1):250-6.
6. Bouchama A, el-Yazigi A, Yusuf A, al-Sedairy S. Alteration of taurine homeostasis in acute heatstroke. *Critical care medicine*. 1993 Apr; 21(4):551-4.
7. Chang XJ, Yang CC, Hsu WS, Xu WZ, Shih TS. Serum and erythrocyte amino acid pattern: studies on major burn cases. *Burns, including thermal injury*. 1983 Mar; 9(4):240-8.
8. Christofides J, Bridel M, Egerton M, Mackay GM, Forrest CM, Stoy N, Darlington LG, Stone TW. Blood 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindoleacetic acid and melatonin levels in patients with either Huntington's disease or chronic brain injury. *Journal of neurochemistry*. 2006 May; 97(4):1078-88.
9. Coutts AJ, Reaburn P, Piva TJ, Rowsell GJ. Monitoring for overreaching in rugby league players. *European journal of applied physiology* 2007 Feb; 99(3):313-24.
10. Dawson R, Biasetti M, Messina S, Dominy J. The cytoprotective role of taurine in exercise-induced muscle injury. *Amino Acids*. 2002 Jun; 22(4):309-24.
11. Diaz-Ruiz A, Salgado-Ceballos H, Montes S, Maldonado V, Tristan L, Alcaraz-Zubeldia M, Rios C. Acute alterations of glutamate, glutamine, GABA, and other amino acids after spinal cord contusion in rats. *Neurochemical research*. 2007 Jan; 32(1):57-63.
12. Farooque M, Hillered L, Holtz A, Olsson Y. Changes of extracellular levels of amino acids after graded compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using microdialysis. [Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't]

Journal of neurotrauma. 1996 Sep; 13(9):537-48.

13. Gromov LA, Sereda PI. Humoral factors of regulation of water-salt metabolism in experimental traumatic brain edema. *Zh. Nevropatol. Psikiatr. Im. S.S.Korsakova*. 1990; 90(12):14-6.

14. Gupta RC, Seki Y, Yosida J. Role of taurine in spinal cord injury. *Current neurovascular research*. 2006 Aug; 3(3):225-35.

15. Guz G, Oz E, Lortlar N, Ulusu NN, Nurlu N, Demirogullari B, Omeroglu S, Sert S, Karasu C. The effect of taurine on renal ischemia/reperfusion injury. *Amino Acids*. 2007; 32(3):405-11.

16. Hagberg H, Andersson P, Kjellmer I, Thiringer K, Thordstein M. Extracellular overflow of glutamate, aspartate, GABA and taurine in the cortex and basal ganglia of fetal lambs during hypoxia-ischemia. *Neuroscience letters*. 1987 Aug 5; 78(3):311-7.

17. Hedner T, Lundborg P. Serotonin metabolism in neonatal rat brain during asphyxia and recovery. *Acta physiologica Scandinavica*. 1980 Jun; 109(2): 163-8.

18. Hootman J.M., Dick R., Agel J. Epidemiology of Collegiate Injuries for 15 Sports: Summary and Recommendations for Injury Prevention Initiatives *J Athl Train*. 2007, vol.42, N.2, pp.311–319

19. Jeevanandam M, Ramias L, Schiller WR. Altered plasma free amino acid levels in obese traumatized man. *Metabolism*. 1991 Apr; 40(4):385-90.

20. Jeevanandam M, Young DH, Ramias L, Schiller WR. Effect of major trauma on plasma free amino acid concentrations in geriatric patients. *The American journal of clinical nutrition*. 1990 Jun; 51(6):1040-5.

21. Lehmann H W, Rimek D, Bodo M, Brenner RE, Vetter U, Wursdurfer O, Karbowski A, Myller PK. Hydroxylation of collagen type I: evidence that both lysyl and prolyl residues are overhydroxylated in osteogenesis imperfecta. *European journal of clinical investigation*. 1995 May; 25(5):306-10.

22. Liu D, Yang Z, Li A. Plasma renin activity (PRA), angiotensin II (AII), atrial natriuretic peptide (ANP) and AII/ANP ratio in severely burned patients. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi* 1994 Mar; 10(2):117-20.

23. Lombardini JB, Cooper MW. Elevated blood taurine levels in acute and evolving myocardial infarction. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1981 Dec; 98(6):849-59.

24. Nakajima Y, Osuka K, Seki Y, Gupta RC, Hara M, Takayasu M, Wakabayashi T. Taurine reduces inflammatory responses after spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*. 2010 Feb; 27(2):403-10.

25. Nilsson P, Hillered L, Pontin U, Ungerstedt U. Changes in cortical extracellular levels of energy-related metabolites and amino acids following concussive brain injury in rats. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*. 1990 Sep; 10(5):631-7.

26. Simpson RK, Robertson CS, Goodman JC. The role of glycine in spinal shock. *The journal of spinal cord medicine*. 1996 Oct; 19(4):215-24.

27. Stover JF, Morganti-Kosmann MC, Lenzlinger PM, Stocker R, Kempski OS, Kossmann T. Glutamate and taurine are increased in ventricular cerebrospinal fluid of severely brain-injured patients. *Journal of neurotrauma*. 1999 Feb; 16(2):135-42.

28. van den Baar MT, Fekkes D, van den Hoogenband CR, Duivenvoorden HJ, Peppinkhuizen L. Plasma amino acids and sports injuries. *Amino Acids*. 2004 Feb; 26(1):71-6.

CONTENT OF FREE AMINO ACIDS AND THEIR DERIVATIVES IN BLOOD SERUM AFTER A SPORTS INJURY

A.I. Mazur, A.V. Naumov, V.Yu. Smirnov
Educational Establishment «Grodno State Medical University»

The content of free amino acids and their metabolites in blood serum of healthy and injured athletes who have received primary sports injuries of varying degree of severity has been investigated. The effect of traumatic injuries in athletes on the level of protein metabolism was examined. Significant ($p < 0,05$) changes in the level of free amino acids and their derivatives in blood serum of the injured athletes as compared to the control group were demonstrated. Signs of activation of anabolic processes, activation of the processes of energy and collagen synthesis, activation of synthesis and decay of the membrane, stabilization of the nervous system after a sports injury were revealed.

Keywords: sports injuries, amino acids, serum.

Поступила 28.06.2012