Аминокислоты в сыворотке крови у больных рассеянным склерозом

Е.М. ИВАНОВА, М.А. БАРАБАНОВА*, Г.Г. МУЗЛАЕВ, Т.А. ПЕТРОПАВЛОВСКАЯ, О.В. СТОЯНОВА

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

Amino acids content in the blood serum of patients with multiple sclerosis

E.M. IVANOVA, M.A. BARABANOVA, G.G. MUZLAEV, T.A. PETROPAVLOVSKAYA, O.V. STOYANOVA

Kuban State Medical University, Krasnodar

У 105 больных рассеянным склерозом различной степени тяжести определяли содержание аминокислот в сыворотке крови методом ионообменной хроматографии и качественным кристаллоскопическим методом «закрытая капля». Установлена зависимость динамики содержания глутаминовой, аспарагиновой кислот, глицина от степени тяжести заболевания по EDSS. Наибольший уровень глутаминовой кислоты отмечен у пациентов с наибольшей тяжестью заболевания. Динамика количественного изменения содержания аминокислот сопровождалась нарушением структуризации сыворотки крови, появлением селективных микроморфотипов. Получена положительная корреляционная зависимость между тяжестью двигательных и координаторных нарушений и повышением уровня глутаминовой кислоты и глицина при тяжелой степени заболевания.

Ключевые слова: *рассеянный склероз, аминокислоты, микроморфотипы сыворотки крови.*

Content of amino acids in the blood serum using ion-exchange chromatography and a quantitative crystalloscopic «closed drop» method was measured in 105 patients with multiple sclerosis of different severity. The relation between the dynamics of content of glutamic, asparagine acids and glycine and the disease severity was determined. The highest level of glutamic acid was found in the patients with severe disease course. The dynamics of quantitative changes in the amino acid content was accompanied by the disturbance of blood serum structuration and appearance of selective micromorphotypes. The positive correlation between the severity of motor and coordination disorders and the increase in levels of glutamic acid and glycine in the severe cases was detected.

Key words: *multiple sclerosis, amino acids, micromorphotypes of the blood serum.*

Известно, что процесс демиелинизации у пациентов с рассеянным склерозом (РС) сопровождается изменением общего и церебрального метаболизма аминокислот в виде дизаминоацидемии [1, 6, 7]. Клинико-экспериментальные исследования показали, что пусковым моментом каскада патологических реакций, формирующих в конечном итоге повреждение и гибель нейрональных систем при РС, является избыточное накопление нейромедиаторных возбуждающих аминокислот (глутамат и аспартат) в экстрацеллюлярном пространстве [2—4, 9—12]. Патология опосредуемой возбуждающими аминокислотами нейрональной трансмиссии играет важную роль в развитии пирамидных симптомов, а также мозжечковых нарушений, которые являются наиболее характерными клиническими проявлениями РС [5].

Цель настоящего исследования — сопоставление динамики неврологических нарушений и изменений содержания аминокислот в крови у больных РС различной степени тяжести.

Материал и методы

Проанализированы 105 клинических наблюдений больных, средний возраст которых составлял 32±7,5 года. В соответствии с расширенной шкалой оценки степени инвалидизации при РС (EDSS) пациентов разделили на три группы: с РС легкой степени было 36 больных (1-я группа), средней — 43 (2-я группа) и тяжелой — 26 (3-я группа). У пациентов 1-й группы степень инвалидизации по EDSS составляла 2,33±0,09 балла, 2-й — 4,1± 1,08 балла, 3-й — 6,4±1,2 балла. Степень выраженности неврологических нарушений оценивали по функциональной шкале (FS). Всем больным проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного и спинного мозга в режимах T1, T2 и FLAIR (3-тесловый томограф).

Содержание аминокислот в сыворотке крови (СК) определяли методом ионообменной хроматографии. В качестве контроля провели исследования СК у 20 практически здоровых лиц. С целью дополнительного определения

© Коллектив авторов, 2012

Zh Nevrol Psikhiatr im SS Korsakova 2012;112:6:50

*e-mail: barabanova.m@gmail.com

содержания аминокислот в СК, а также для изучения диагностической ценности данного способа исследования биологических жидкостей использовали кристаллоскопический метод (способ «закрытая капля») [8]. Для диагностики гипераминоацидемии предварительно готовили стандартные эталонные модели, содержавшие СК здорового человека, обогащенную аминокислотами с заранее известной концентрацией.

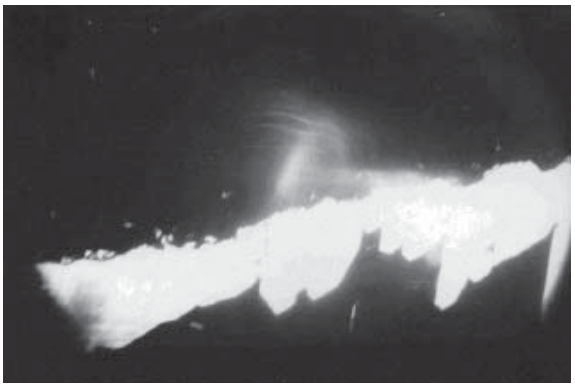
Полученные данные обработаны статистически с помощью программы Statistica 6.

Результаты

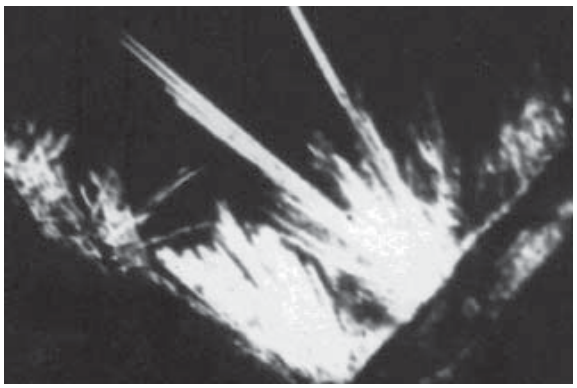
У пациентов 1-й группы в СК по сравнению с контролем преимущественно повышалось содержание фенилаланина, глицина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. Уровень фенилаланина увеличивался на 23% ($p<0,05$), глицина — на 13,1% ($p<0,05$), аспарагиновой кислоты — в 2,5 раза ($p<0,05$), глутаминовой — в 2,2 раза ($p<0,05$) по сравнению с нормой. Содержание серина достоверно не отличалось от нормальных значений (табл. 1).

При кристаллоскопии структура СК была представлена ее основными базисными элементами — нитевидными дихотомически ветвящимися кристаллами, составляющими 76% от общего объема препарата. Остальная часть препарата содержала кристаллы в виде овалоидных зерен, платообразных и вытянутых друз. Соотношение кристаллических микроформ на 1 см² поверхности препарата распределялось следующим образом: кристаллы аспарагиновой кислоты преимущественно визуализировались в виде единичных платообразных друз — до 6% от общего объема препарата (рис. 1); кристаллы глицина — в виде вытянутых друз (рис. 2), а глутаминовой кислоты — в виде овалоидных зерен (рис. 3), составляя соответственно 8 и 10% от общего объема препарата. При проведении корреляционного анализа инвалидизации по EDSS и содержания кристаллических микроформ значимых корреляций для платообразных, вытянутых друз, овалоидных зерен, нитевидных дихотомически ветвящихся и лучевых кристаллов установлено не было.

По мере утяжеления состояния пациентов изменялось количественное содержание микротипов в сыворотке, нарушалась нормальная структура СК, появлялись вторичные формы кристаллов. У пациентов 2-й группы количество нитевидных дихотомически ветвящихся кристаллов уменьшилось в 1,9 раза по сравнению с 1-й группой ($p<0,05$). У пациентов 2-й группы впервые появлялись кристаллы лучевые (см. рис. 1, б), в виде ветвящихся друз (см. рис. 2, б), увеличивалось содержание овалоидных зерен и платообразных друз, что является отражением



а



б

Рис. 1. **Типовые структуры сыворотки крови при гипераспарагинемии.**

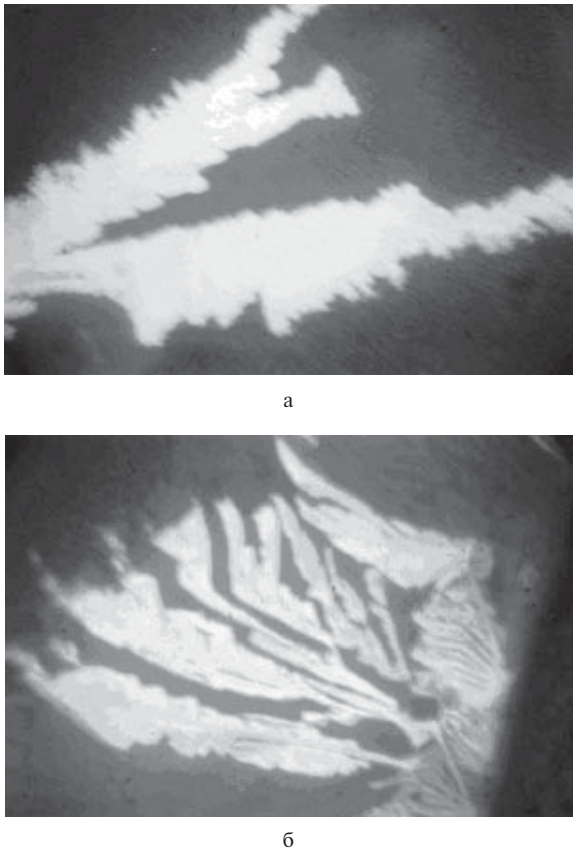
а — платообразные друзы; б — лучевые кристаллы. Ув. 240.

изменения количественного содержания аминокислотного состава (табл. 2). Уровень серина был на 11,3% выше нормы ($p<0,05$), но не отличался от значения в 1-й группе; глицина — на 21,7% выше нормы ($p<0,05$) и на 6% больше, чем в 1-й группе (см. табл. 1). Количественное содержание фенилаланина и глутаминовой кислоты достоверно не отличалось от их значений в 1-й группе, но было на 30,8% и в 2,2 раза выше нормы соответственно. Нарастание концентрации аспарагиновой кислоты было в 2,6 раза выше нормы ($p<0,05$) и подтверждалось появлением двух микроформ кристаллов — платообразных друз (см. рис. 1, а) и единичных лучевых кристаллов (см. рис. 1, б). Количество платообразных друз составляло 16% от общего объема

Таблица 1. **Содержание аминокислот (в мкМ) в сыворотке крови больных РС различной степени тяжести**

Аминокислоты	Контроль	Тяжесть заболевания		
		легкая степень, 1-я группа	средняя степень, 2-я группа	тяжелая степень, 3-я группа
Фенилаланин	0,052±0,003	0,064±0,002*	0,068±0,002*	0,072±0,001*
Глицин	0,198±0,003	0,226±0,010*	0,241±0,012*	0,248±0,012*
Аспарагиновая кислота	0,008±0,001	0,018±0,02	0,021±0,002±	0,023±0,003
Серин	0,142±0,001	0,142±0,001	0,158±0,076*	0,167±0,059*
Глутаминовая кислота	0,070±0,006	0,149±0,003*	0,155±0,012*	0,172±0,011*

Примечание: * — $p<0,05$, достоверные различия по сравнению с контролем.

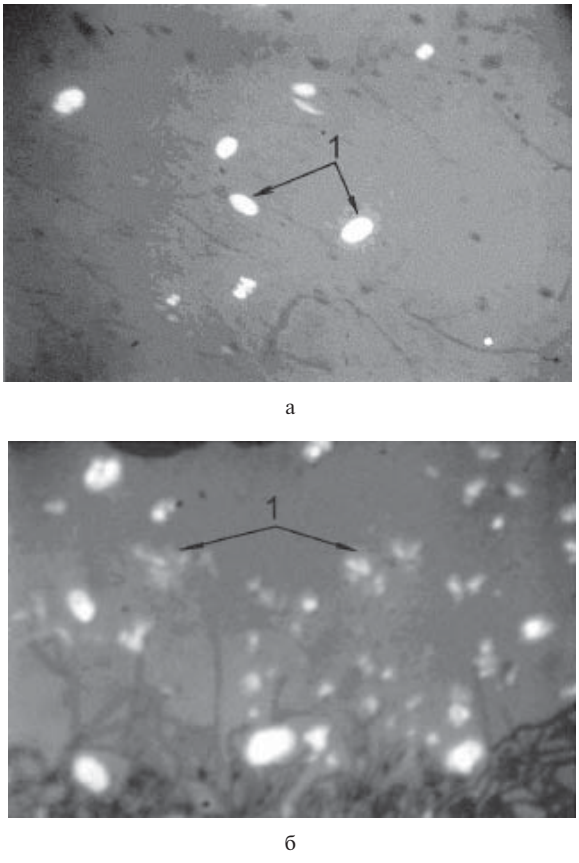


а

б

Рис. 2. **Типовые структуры сыворотки крови при гиперглицинемии.**

а — вытянутые друзы; б — ветвящиеся друзы. Ув. 240.



а

б

Рис. 3. **Типовые структуры сыворотки крови при гиперглутаминемии.**

Стрелками указаны: а — овалоидные зерна; б — звездчатые агрегаты. Ув. 240.

препарата и увеличилось в 2,7 раза по сравнению с 1-й группой ($p<0,05$). Количество лучевых кристаллов равнялось 9% от общего объема препарата. Гиперглицинемия проявилась наличием двух видов кристаллов — вытянутых (см. рис. 2, а) и ветвящихся друз (см. рис. 2, б). Количество вытянутых друз было на 2% больше в сравнении с препаратами 1-й группы. Ветвящиеся друзы составили 2% от общего объема препарата. Кроме того, в поле зрения препарата определялись кристаллы глутаминовой кислоты, занимающие до 23% от общего объема. Они были представлены овалоидными зернами и их было на 13% больше в сравнении с 1-й группой.

У пациентов 2-й группы выявлялись положительные корреляционные связи между степенью тяжести по EDSS и определенными кристаллическими формами: овалоидными зернами — кристаллами глутаминовой кислоты ($r=0,38$, $p<0,05$), ветвящимися друзами — кристаллами глицина ($r=0,27$, $p<0,05$). Выявленные зависимости согласовывались с количественным увеличением содержания аминокислот в СК. Для остальных кристаллических форм (платообразные и вытянутые друзы, нитевидные дихотомически ветвящиеся и лучевые кристаллы) корреляционной зависимости со степенью тяжести не установлено.

Таблица 2. **Динамика микротипов сыворотки крови (в% от общего объема препарата) больных РС при гипераминоацидемии**

Микротипы	Тяжесть заболевания		
	легкая степень, 1-я группа	средняя степень, 2-я группа	тяжелая степень, 3-я группа
Платообразные друзы	5,8±0,2	16,04±0,2*	—
Лучевые кристаллы	—	9,3±0,1	21,1±0,3**
Ветвящиеся друзы	—	2,1±0,1	24,1±0,2**
Вытянутые друзы	8,2 ±0,2	9,9±0,1	—
Овалоидные зерна	9,7±0,2	23,1±0,2	20,3±0,2
Звездчатые агрегаты	—	—	30,5±0,3
Нитевидные дихотомически ветвящиеся кристаллы	76±0,2	40,0±0,3*	4,2±0,1*, **

Примечание. * — $p<0,05$, достоверные различия по сравнению с 1-й группой; ** — $p<0,05$, достоверные различия по сравнению со 2-й группой.

Таблица 3. **Взаимосвязь уровня аминокислот (коэффициенты корреляции по Спирмену) в сыворотке крови и выраженности очаговых неврологических симптомов по шкале FS у пациентов с РС различной степени тяжести**

Аминокислоты	Градация по шкале					
	FS1	FS2	FS3	FS4	FS5	FS7
			1-я группа			
Глутаминовая	–0,21	0,54*	–0,35	–0,18	0,23	0,22
Аспарагиновая	–0,19	0,02	0,28	0,09	–0,06	–0,10
Глицин	0,71*	0,56*	0,49*	0,01	–0,45*	–0,18
			2-я группа			
Глутаминовая	–0,18	0,62*	0,25	0	0,03	0,18
Аспарагиновая	0,28	–0,26*	–0,03	–0,24	0,08	0,38*
Глицин	0,82*	0,73*	–0,14	–0,30*	–0,02	0,13
			3-я группа			
Глутаминовая	–0,63*	0,87*	–0,14	0,25	0,009	0,006
Аспарагиновая	0,26	–0,48*	–0,23	–0,10	–0,10	0,45*
Глицин	0,90*	0,41*	–0,03	–0,34*	–0,27*	0,09

Примечание. * — $p<0,05$ — достоверные корреляции.

Тяжелая степень РС в 3-й группе пациентов характеризовалась достоверным увеличением концентрации всех аминокислот (см. табл. 1). Уровень фенилаланина был на 38,5% выше нормы ($p<0,05$) и на 12,5% больше, чем в 1-й группе ($p<0,05$), достоверно не отличаясь от 2-й группы. Концентрация глицина повышалась на 14,1% в сравнении с 1-й группой, на 6,6% — со 2-й и на 25,3% — с нормой ($p<0,05$). Количество серина было на 5,7% больше, чем во 2-й группе и на 17,6% выше нормы ($p<0,05$). Концентрация глутаминовой кислоты была выше на 15,4%, чем в 1-й группе ($p<0,05$), на 11% — чем во 2-й и в 2,5 раза выше нормы ($p<0,05$). Содержание аспарагиновой кислоты было в 2,9 раза выше нормы ($p<0,05$).

При тяжелой степени РС количество базисных элементов СК (нитевидные дихотомически ветвящиеся кристаллы) уменьшилось в 10 раз по сравнению со 2-й группой и в 19 раз — с 1-й ($p<0,05$). Отличительной особенностью СК больных 3-й группы являлось появление атипичных кристаллов в виде звездчатых агрегатов (см. рис. 3, б), составляющих 31% от общего объема препарата. Среди микроморфотипов у пациентов с РС 3-й группы преобладали кристаллы глутаминовой кислоты — до 51% от общего объема препарата. Глицин был представлен ветвящимися друзами, составляющими 24% от общего объема препарата, что в 12 раз больше, чем во 2-й группе ($p<0,05$). Аспарагиновая кислота представлена лишь лучевыми кристаллами, составляющими 21% от общего объема препарата. Выявлено достоверное увеличение количества лучевых кристаллов — в 2,3 раза больше, чем во 2-й группе. По мере утяжеления состояния пациентов наиболее возрастало содержание глутаминовой кислоты.

Был проведен корреляционный анализ между уровнем содержания аминокислот в СК и выраженностью очаговых неврологических симптомов по шкале FS (табл. 3). Выявлена устойчивая положительная корреляционная связь между уровнем глицина и степенью выраженности двигательных нарушений (FS1); глутаминовой кислоты и мозжечковыми расстройствами во всех группах, усиливающаяся по мере утяжеления состояния; аспарагиновой кислоты и общемозговыми нарушениями (FS7). Отрицательные корреллляции получены между уровнем глицина и мозжечковыми нарушениями (FS2), максимально выраженные во 2-й группе; с чувствительными расстройствами (FS4) во 2-й и 3-й группах. Определены отрицательные корреляционные зависимости умеренной степени выраженности между уровнем глутаминовой кислоты и двигательными расстройствами (FS1) у тяжелых пациентов 3-й группы; аспарагиновой кислоты и мозжечковыми нарушениями (FS2).

Также выявлена корреляционная зависимость между степенью тяжести РС по EDSS и количественным содержанием типовых кристаллов при дизаминоацидемии: при средней степени тяжести с количеством кристаллов глицина ($r=0,27$, $p<0,05$) и глутаминовой кислоты ($r=0,38$, $p<0,05$), при тяжелой степени РС — с количеством кристаллов аспарагиновой ($r=0,39$, $p<0,05$), глутаминовой кислоты ($r=0,45$, $p<0,05$) и глицина ($r=0,82$, $p<0,05$).

Таким образом, у больных с РС в СК выявлено повышенное содержание аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, глицин), наиболее выраженное при большей степени тяжести заболевания. Динамика количественного изменения содержания аминокислот сопровождалась изменениями микроструктуры СК, появлением селективных микроморфотипов аминокислот. По мере утяжеления состояния пациентов нарушалась нормальная структура сыворотки крови, уменьшалось количество нормальных базисных элементов (нитевидные дихотомически ветвящиеся кристаллы), появлялись вторичные («патологические») формы — звездчатые агрегаты. При преобладании в неврологическом статусе мозжечковой симптоматики в СК обнаруживались кристаллы глутаминовой, при ретробульбарном неврите — аспарагиновой кислоты. Полученная положительная корреляционная зависимость между тяжестью двигательных, координаторных нарушений и повышением уровня глутаминовой кислоты и глицина подтверждает участие этих нейротрансмиттерных систем в формировании координаторных и двигательных расстройств при РС.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бархатова В.П., Завалишин И.А., Хайдаров Б.Т.* Нейротрансмиттеры в механизмах связи между нервной и иммунной системами при рассеянном склерозе. Журн неврол и психиат 1998; 11: 51—54.
2. *Бархатова В.П., Завалишин И.А., Хайдаров Б.Т. и др.* Биохимические механизмы нарушения нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе. Журн неврол и психиат 2000; 11: 42—46.
3. *Бархатова В.П., Завалишин И.А., Байдина Е.В.* Патофизиология демиелинизирующего процесса. Журн неврол и психиат 2002; 7: 53—57.
4. *Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н.* Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. М 2004; 253.
5. *Завалишин И.А., Хайдаров Б.Т. и др.* Журн неврол и психиат 2000; 11: 42—46.
6. *Завалишин И.А., Головкин В.И.* Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики. М 2000; 217.
7. *Иваноков А.Н., Дубровская М.К., Карнеев А.Н. и др.* Спектр свободных аминокислот плазмы крови у больных рассеянным склерозом. Журн неврол и психиат 1984; 2: 185—189.
8. *Савина Л.В.* Кристаллоскопические структуры сыворотки крови здорового и больного человека. Краснодар 1999; 67.
9. *Davidoff R.A.* The Origin and Treatment of Spasticity. USA 1990; 63—91.
10. *Matute C., Sanchez-Gomez M.V., Martinez-Millan L. et al.* Glutamate receptor-mediated toxicity in optic nerve oligodendrocyres. Proc natl acad sci USA 1997; 94: 8830—8835.
11. *Takahashi J.L., Giuliani F., Power C. et al.* Interleukin-1beta promotes oligodendrocyt death through glutamat excitotoxicity. Ann neurol 2003; 53: 588—595.
12. *Werner P., Pitt D., Raine C.S.* Multiple sclerosis: aletered glutamate homeostasis in lesions correlates with oligodendrocyte and axonal dadmage. Ann neurol 2001; 50: 169—180.