

АМИНОКИСЛОТНЫЙ И ВИТАМИННЫЙ ПРОФИЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ СТУДЕНТОК ВУЗА, ЗАНИМАЮЩИХСЯ СПОРТОМ

УДК 616

¹Зайцева И.П., ²Серебрянский Е.П., ²Скальная М.Г., ³Капустин Д.В.

¹ГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», Ярославль, Россия

²АНО «Центр биотической медицины», Москва, Россия

³ФГБУН «Институт биоорганической химии им. Академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук», Москва, Россия

AMINO ACID AND VITAMIN PROFILES IN SERUM OF THE UNIVERSITY STUDENTS PRACTICING SPORTS

¹Zaitseva I.P., ²Serebryansky E.P., ²Skalnaya M.G., ³Kapustin D.V.

¹«Demidov Yaroslavl State University», Yaroslavl, Russia,

²«Centre for Biotic Medicine», Moscow, Russia

³«Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry», Russian Academy of Science, Moscow, Russia

Введение

В отличие от всех других жизненно важных пищевых веществ (незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот и т.д.), витамины не обладают пластическими свойствами и не используются организмом в качестве источника энергии. Участвуя в разнообразных химических превращениях, они оказывают регулирующее влияние на обмен веществ и тем самым обеспечивают нормальное течение практически всех биохимических и физиологических процессов в организме.

Значительный дефицит тех или иных витаминов в организме (авитаминоз) в настоящее время довольно редок, намного чаще встречается умеренный недостаток витаминов. Это состояние не сопровождается яркой клинической картиной, однако отрицательно сказывается на общем состоянии. Следует отметить, что полиавитаминозы встречаются чаще, чем изолированная относительная или полная недостаточность одного из витаминов. При гиповитаминозах особенно часты слабость, снижение памяти, трудоспособности, нарушения сна, понижение аппетита, одышка при обычной физической нагрузке [1, 2].

Аминокислоты – органические соединения, аминокислотные производные карбоновых кислот – основной структурный материал для синтеза белков и пептидов в организме. В составе белков пищи найдено 20 видов боковых аминокислотных цепей, некоторые из которых не могут синтезироваться в организме человека (незаменимые аминокислоты) и должны поступать с пищей. Аминокислоты являются не только составными частями молекулы белка, но и самостоятельными биологически активными регуляторами различных реакций организма.

Как известно, нарушение обмена аминокислот обуславливает развитие патологических изменений в организме. Аминокислоты являются главным строительным материалом при восстановлении и наращивании мышечной массы. Во время физических упражнений аминокислоты активно используются в различных химических реакциях. Установлено, что нагрузки даже средней интенсивности вызывают распад аминокислот

с разветвленными боковыми цепочками. Считается, что аминокислотные комплексы достигают 60–80% эффективности анаболических стероидов. Поэтому многие атлеты используют аминокислотную и протеиновую загрузку для усиления синтеза белка в организме и повышения скорости восстановительных процессов.

Многие аминокислоты являются мощными активаторами высвобождения гормона роста, например, 3,4-дегидроксифенилаланин и 5-гидрокситриптофан. Другие аминокислоты, например, аргинин, гистидин, лизин, орнитин, цистеин и триптофан также обладают анаболическим эффектом с менее выраженными побочными явлениями [3].

Материалы и методы

В исследовании принимали участие 37 студенток университета в возрасте от 18 до 22 лет, регулярно занимающихся спортом (различные виды фитнеса). Группой сравнения служили студентки с низкой физической активностью (19 человек).

Перед забором крови в течение 2 недель студентки воздерживались от приема препаратов, содержащих витамины, спортивных белковых смесей и препаратов, содержащих аминокислоты (глицин, лимонат, ГАМК и др.). Забор крови для анализа содержания витаминов производился в две пробирки-контейнеры по 10 мл, предназначенные для получения цельной крови и содержащие антикоагулянт Na₂ЭДТА. Для анализа содержания аминокислот собирали сыворотку в специальные пробирки-контейнеры с активатором свертывания в виде геля или гранул. После взятия крови пробирки мягко переворачивали не менее 5 раз. Пробирки с сывороткой центрифугировали при 1500 об/мин 15 мин. Полученную сыворотку отбирали в микропробирку типа эппендорф. Далее все пробы хранились при температуре -18°C вплоть до проведения пробоподготовки и ВЭЖХ-анализа, осуществляемых в АНО «Центр биотической медицины».

Пробоподготовку образцов сыворотки при выделении аминокислот проводили, усовершенствовав метод компании Waters (США). При этом вместо обра-

ценно-фазных колонок Pico-Tag использовали картриджи, содержащие специальный сорбент на основе пористого кремнезема, поверхность модифицированного слоем фторопласта. ВЭЖХ проводили в условиях, рекомендованных компанией Waters.

Пробоподготовку образцов крови при выделении витаминов проводили совместно разработанным ФГБУН ИБХ РАН и АНО «Центр биотической медицины» методом [4], включающим этапы осаждения белков крови двукратным объемом ацетонитрила, концентрирования надосадочной жидкости с последующей жидкофазной экстракцией четырех жирорастворимых витаминов (А, D, Е, К) n-гексаном и твердофазной экстракцией полученных и сконцентрированных фракций жирорастворимых витаминов (В₁, В₅, В₆, В₁₂, С) на кремнеземном сорбенте, модифицированном фторопластом-42Л, проводя элюцию указанных фракций метанолом и 30% водным ацетонитрилом, соответственно. Способы синтеза фторполимерсодержащих сорбентов и методы их применения в пробоподготовке в медицинской диагностике описаны, например, в [5, 6]. Определение концентрации выделенных витаминов проводили методом ВЭЖХ (PerkinElmer S200, PerkinElmer, США). Витамины жирорастворимой фракции определяли на колонке PerkinElmer Pecosphere RP C8 3 мкм, 80x4,5 мм с предколонкой PE NewGuard RP8, 7 мкм, 15x3,2 мм при 26°C при 270 нм в градиенте метанола (А: метанол, В: вода – 0,5 мин, В 50%, 0,7 мл/мин; 16 мин, А 100%, 0,7 мл/мин; 2 мин, В 50%, 1,0 мл/мин; 5 мин, В 50%, 2,0 мл/мин). Витамины водорастворимой фракции определяли на колонке PerkinElmer Pecosphere RP C18 3 мкм, 80x4,5 мм с предколонкой PE NewGuard RP18, 7 мкм, 15x3,2 мм при 26°C при 210 нм в градиенте ацетонитрила (А: ацетонитрил, В: 0,4 М LiClO₄, pH 3,5 – 3,5 мин, В 100%, 0,8 мл/мин; 15 мин, В 80%, 0,8 мл/мин; 3 мин, В 80%, 2,0 мл/мин; 3 мин, В 100%, 2,0 мл/мин; 1 мин, В 100%, 1,0 мл/мин).

Результаты и их обсуждение

Анализ проведенных исследований показал, что в сыворотке крови спортсменок концентрация целого

ряда аминокислот была выше по сравнению с группой контроля. Так, отмечена повышенная концентрация тирозина по сравнению с таковой в группе студентов, не занимающихся спортом, на 15%, таурин на 17%, валина и гистидина на 20% и 22%, соответственно. На 24% у спортсменок были повышены концентрации глицина и треонина. В наибольшей степени отклонения в концентрации аминокислот у спортсменок отмечены по аланину и глутамину (37 и 38%, соответственно). Все перечисленные отклонения были достоверны. По степени достоверности спортсменки отличаются от контрольной группы повышенной концентрацией аминокислот в сыворотке крови в следующем порядке: глицин ($p < 0,0002$) и гистидин ($p < 0,008$), в несколько меньшей степени аланин и глутамин ($p < 0,012$), таурин ($p < 0,013$), треонин ($p < 0,020$), валин ($p < 0,028$), тирозин ($p < 0,032$) (табл. 1). Обращает на себя внимание, что все выявленные отклонения в основной группе направлены только в сторону увеличения концентрации.

Для понимания возможных эффектов данных изменений со стороны обмена аминокислот следует учитывать функции отдельных микронутриентов в организме [3, 7]. Так, аланин играет главную роль в цикле преобразования аминокислот в глюкозу. Обладает иммуномодулирующим действием. Считается, что аланин можно эффективно использовать для увеличения концентрации глюкозы в крови перед стартом или после тренировки, когда это особенно необходимо атлету.

Глутаминовая кислота способствует концентрации внимания и является потенциальным источником энергии в организме. Путем химических преобразований из глутаминовой кислоты образуются глутамин, пролин, аргинин и глутатион. Глутамин участвует в метаболизме жиров и углеводов, повышает уровень сахара в крови при гипогликемии.

Глицин входит в состав структуры гемоглобина и цитохромов и способствует синтезу других аминокислот. В энергетическом плане является ключевым звеном в синтезе глюкагона – одного из основных факторов, влияющих

Таблица 1. Содержание аминокислот в цельной крови студенток-спортсменок и студенток с низкой физической активностью, мкм/л.

Аминокислоты	Спортсменки, n=37		Контрольная группа, n=19		p
	M±m	Me (p5–p95)	M±m	Me (p5–p95)	
Aab	49±15	48 (30–77)	41±12	41 (28–60)	> 0,05
Ala	444±186	454 (162–724)	310±146	284 (103–587)	0,0115
Arg	141±56	133 (53–239)	125±51	117 (71–232)	> 0,05
Asn	70±29	61 (44–113)	79±41	62 (44–142)	> 0,05
Asp	22±7,4	22 (10–34)	20±8,7	20 (6,5–33)	> 0,05
Glu	95±47	87 (42–179)	69±46	54 (21–166)	0,0115
Gly	331±91	312 (239–501)	243±64	237 (143–364)	0,0002
His	101±35	95 (62–176)	76±24	74 (42–120)	0,0081
Hpro	19±14	14 (5,0–39)	21±16	17 (4,4–41)	> 0,05
Met	39±15	38 (21–65)	34±7,7	33 (25–47)	> 0,05
Ser	120±63	105 (61–263)	90±57	85 (34–185)	> 0,05
Tau	124±34	118 (74–181)	101±26	99 (75–137)	0,0134
Thr	137±45	129 (71–213)	108±40	98 (64–176)	0,0203
Tyr	66±22	61 (42–106)	54±16	52 (36–78)	0,0319
Val	172±63	167 (99–320)	136±47	134 (86–222)	0,0276

Примечание: Me – медиана, p5 – 5% процентиль, p95 – 95% процентиль, M – среднее арифметическое, – стандартное отклонение.

на использование запасов гликогена мышц и печени. Он способствует выведению токсинов из организма.

Гистидин участвует в производстве красных и белых кровяных телец, поэтому применяется при анемии, лечении аллергических заболеваний, язв желудка и кишечника. Гистидин – исходное вещество при биосинтезе гистамина и биологически активных пептидов мышц (карнозина и анзерина). Гистидин также влияет на иммунитет, так как его много содержится в тучных клетках. Поэтому его применяют в лечении аутоиммунных заболеваний (аллергии, ревматоидного артрита) в качестве активатора гистамина и хелатирующего агента. Существенный избыток гистидина не желателен, так как может вызывать нарушения менструального цикла у женщин, иногда ассоциируется с шизофренией.

Амиды, образованные таурином (β -аминоэтансульфоновая кислота) и жёлчными кислотами (например, таурохолевая кислота), входят в состав жёлчи млекопитающих и обеспечивают эмульгирование и всасывание жиров. Таурин нашел применение в качестве стимулирующего средства, средства в комплексном лечении тиков, эпилептических припадков, стенокардии, сахарного диабета.

Треонин участвует в обезвреживании токсинов, предотвращает накопление жира в печени и является важным компонентом коллагена.

Тирозин, влияя на функцию щитовидной железы, помогает организму мобилизовать жир из депо, ускорить обмен веществ, стимулировать выработку в кишечнике гормона холецистокинина, снижающего аппетит. Поэтому тирозин (часто в сочетании с фенилаланином) часто входит в состав программ похудения на Западе.

BCAA-группа незаменимых аминокислот (лейцин, изолейцин, валин) метаболизируется в мышцах в большей степени, чем в печени. BCAA широко используется в спорте и фитнесе для улучшения деятельности мышц и увеличения мышечной массы.

Функциональные характеристики аминокислот, по которым имелись отклонения содержания у спортсменов, занимающихся фитнесом, показывают, что в организме девушек имеет место активация и усиление обменных процессов в связи с физической нагрузкой.

Для витаминов отмечены изменения концентрации в цельной крови спортсменок только по двум наименованиям. Выявлено достоверное снижение содержания витамина А на 36% ($p < 0,0002$) и повышение витамина В1 на 55% ($p < 0,018$) (табл. 2).

Повышение концентрации тиамин (витамин В₁) в крови спортсменок, возможно, носит диетарный характер. Данный микронутриент функционирует в организме как необходимый кофактор в метаболизме белков, углеводов и жиров при выработке энергии. Этот витамин также необходим для того, чтобы копировать генетический материал, который должен передаваться от одной клетки к другой при делении клеток, а также для нормальной передачи электрических нервных сигналов. Витамин входит в состав ряда ферментов, участвующих в углеводном обмене; в организме превращается в кокарбоксилазу, которую относят к группе ферментов, участвующих в углеводном обмене.

Обращает на себя внимание снижение концентрации витамина А в виду выполнения им важных функций в организме. Витамин А способствует нормальному обмену веществ, росту и развитию организма, обеспечивает физиологические функции эпителия кожных покровов и слизистых оболочек, потовых, слезных и слезных желез, органа зрения. Витамин А обеспечивает целостность эпителиальных клеток, которые формируют кожу, слизистую оболочку рта, кишечника, дыхательных и половых путей. Витамин А – необходимый кофактор при продуцировании спермы и развитии яйцеклеток. Кроме того, витамин необходим для нормального роста и развития костей. Известно, что дефицит цинка может привести к нарушению превращения витамина А в активную форму, что может привести к недостаточному поступлению витамина А к тканям. С другой стороны, для нормального поглощения витамина А необходимо присутствие в рационе жиров и белков [8]. В клинической картине недостаточности витамина А имеют место нарушения функции органов зрения, снижение сопротивляемости организма к инфекционным болезням, ороговение слизистых оболочек ряда органов и кожи.

Полученные данные свидетельствуют о разбалансированном питании студенток, регулярно занимающихся спортом. Повышенные концентрации в сыворотке крови целого ряда аминокислот может говорить о «белковом перекорме» спортсменок. Об этом же свидетельствует развитие дефицита жирорастворимого витамина А.

Выводы

Таким образом, показана неоптимальная обеспеченность организма изучаемыми микронутриентами у спортсменок, занимающихся различными видами фитнеса. Полученные результаты показывают необходимость кон-

Таблица 2. Содержание витаминов в цельной крови студенток-спортсменок и студенток с низкой физической активностью, мкг/мл.

Аминокислоты	Спортстменки, n=37		Контрольная группа, n=19		p
	M±m	Me (p5–p95)	M±m	Me (p5–p95)	
A	0,280±0,0843	0,248 (0,185–0,409)	0,380±0,079	0,385 (0,267–0,499)	0,0002
B1	0,494±0,262	0,496 (0,126–0,956)	0,315±0,198	0,223 (0,109–0,598)	0,0182
B12	0,0059±0,0023	0,0054 (0,0033–0,0098)	0,007±0,002	0,008 (0,004–0,009)	> 0,05
B5	1,62±1,14	1,30 (0,377–3,67)	1,90±1,05	1,57 (0,648–3,87)	> 0,05
B6	0,143±0,137	0,097 (0,030–0,399)	0,157±0,110	0,106 (0,042–0,379)	> 0,05
C	10,8±3,86	10,5 (5,93–17,2)	11,5±3,98	11,5 (6,34–17,4)	> 0,05
D	0,0036±0,0013	0,0036 (0,0016–0,0055)	0,004±0,0026	0,0034 (0,0017–0,0083)	> 0,05
E	0,175±0,087	0,145 (0,077–0,330)	0,196±0,118	0,172 (0,070–0,469)	> 0,05
K	0,0023±0,0010	0,0023 (0,0010–0,0042)	0,0028±0,0018	0,0023 (0,0009–0,0066)	> 0,05

Примечание: Me – медиана, p5 – 5% процентиль, p95 – 95% процентиль, M – среднее арифметическое, – стандартное отклонение.

троля за аминокислотным и витаминными профилями у женщин, регулярно занимающихся спортом, поскольку имеют место нарушения их обмена вследствие физи-

ческих нагрузок. Это позволит восстанавливать уровень функциональных резервов у спортсменок путем персонализированной пиццентирической коррекции.

Работа выполнена при поддержке проекта № 544 в рамках базовой части государственного задания на НИР Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Тутельян В.А., Спиричев В.Б., Суханов Б.П. и Кудашева В.А. Микронутриенты в питании здорового и больного человека. – М.: Колос, 2002. – 424 с.
2. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Спиричев В.Б. Изменение обеспеченности витаминами взрослого населения Российской Федерации за период 1987–2009 гг. (к 40-летию лаборатории витаминов и минеральных веществ НИИ питания РАМН). // Вопросы питания. 2010. Т.79, № 3. С. 68–72.
3. Кулиненко О.С. Фармакология спорта. 3 изд., доп. – М.: Советский спорт, 2001. – 200 с.
4. Kapustin D., Prostyakova F., Zubov V. / Direct Synthesis of Biocompatible Fluoropolymer- and/or Polyaniline-containing Composites Based on Porous and Non-porous Activated Matrices for Bioseparation, Bioanalysis and Medical Diagnostics // Zing Conferences. Polymer Chemistry Conference. Cancun. Mexico. 2012. P. 42.
5. Kapustin D.V., Prostyakova A.I., Ryazantsev D.Yu., Zubov V.P. Novel composite matrices modified with nanolayers of fluoropolymers as perspective materials for separation of biomolecules and bioanalysis // Nanomedicine, 2011. 6(2): 241–255.
6. Kapustin D., Prostyakova A., Bryk Ya., Yagudaeva E., Zubov V. New Composite Materials Modified with Nano-Layers of Functionalized Polymers for Bioanalysis and Medical Diagnostics. In: Nanocomposites and polymers with analytical methods. Cuppoletti J (Ed.), Croatia: Intech, ISBN: 978-953-307-352-1, 83–106 (2011).
7. Биохимия: учебник для вузов/ под ред. Е.С.Северина – 5-е изд., – 2009. – 768 с.
8. Мазо В.К., Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Пенева В.В. Микронутриенты-антиоксиданты в составе обогащенных и функциональных пищевых продуктов // Вестник восстановительной медицины, 2013. – N 2. – С. 55–58.

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование содержания 15 аминокислот (Aab, Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, His, Hypro, Met, Ser, Tau, Thr, Tyr, Val) в сыворотке и 9 витаминов (A, B₁, B₁₂, B₅, B₆, C, D, E, K) в цельной крови 37 студенток университета, регулярно занимающихся спортом (различные виды фитнеса). Возраст обследованных находился в диапазоне 18–22 года. Полученные данные сравнивались с результатами обследований студенток с низкой физической активностью (19 человек). Пробоподготовку образцов сыворотки при выделении аминокислот проводили, усовершенствовав метод компании Waters (США). Пробоподготовку образцов крови при выделении витаминов проводили специально разработанным методом, сочетающим стадии концентрирования, жидкофазной и твердофазной экстракции на пористом кремнеземном сорбенте, модифицированном фторопластом. Определение концентрации выделенных аминокислот и витаминов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (PerkinElmer S200, PerkinElmer, США). Установлено, что спортсменки отличаются от контрольной группы повышенной концентрацией в сыворотке крови глицина ($p < 0,0002$) и гистидина ($p < 0,008$), в несколько меньшей степени аланина и глутамина ($p < 0,012$), таурина ($p < 0,013$), треонина ($p < 0,020$), валина ($p < 0,028$), тирозина ($p < 0,032$). В то же время, контрольная группа отличалась от основной группы более высокой концентрацией в сыворотке крови витамина А ($p < 0,0002$) и низкой B1 ($p < 0,018$). Полученные данные, вероятно, свидетельствуют о «белковом перекорме» спортсменок, который выражается повышением концентрации в сыворотке крови указанных аминокислот и развитием дефицита жирорастворимого витамина А. Следовательно, необходим контроль за аминокислотным и витаминными профилями у женщин, регулярно занимающихся спортом, поскольку имеет место нарушения их обмена вследствие физических нагрузок и неоптимальная обеспеченность организма этими микронутриентами. Это мероприятие позволит восстанавливать уровень функциональных резервов у спортсменок путем персонализированной пиццентирической коррекции.

Ключевые слова: аминокислоты, витамины, выделение, определение, сорбент со фторполимерной пленкой, сыворотка крови, спортсменки.

ABSTRACT

The content of 15 amino acids (Aab, Ala, Arg, Asn, Asp, Glu, Gly, His, Hypro, Met, Ser, Tau, Thr, Tyr, Val) in serum and 9 vitamins (A, B₁, B₁₂, B₅, B₆, C, D, E, K) in whole blood was evaluated in 37 university students engaged in athletics (various kinds of fitness). An age of the students was from 18 to 22 years. The obtained data were compared to the results of female students with low physical activity (19 people). The sample preparation of the serum samples was carried out using the optimized method initially developed by Waters (USA). The sample preparation of the blood samples for vitamins isolation was realized using the specially developed method combining the steps of the samples concentration, liquid-phase and solid-phase extraction by applying of silica-based sorbent modified with fluoroplast. The concentration of the isolated amino acids and vitamins was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) (PerkinElmer S200, PerkinElmer, USA). It was found that female athletes were differed from the control group by higher concentrations of glycine ($p < 0,0002$) and histidine ($p < 0,008$) in serum; to a lesser degree by alanine and glutamine ($p < 0,012$), taurine ($p < 0,013$), threonine ($p < 0,020$), valine ($p < 0,028$), and tyrosine ($p < 0,032$). At the same time, the control group was differed from the main group by higher concentration of vitamin A ($p < 0,0002$) and lower concentration of vitamin B1 ($p < 0,018$). The obtained data probably demonstrates the «protein overfeeding» of female athletes; it is confirmed by the increasing of these amino acids content in serum and in the growth of fat-soluble vitamin A deficiency. Therefore, it is necessary to control the amino acid and vitamin profiles in women who taking exercises in regular manner, considering that metabolic disorder due to physical load and nonoptimal provision of the body by these micronutrients are occurred. This arrangement will allow to recovering of the functional reserves in athletes by means of personalized food and nutraceutical correction.

Keywords: amino acids, vitamins, isolation, determination, fluoropolymer-coated sorbents, blood serum, female athletes.

Контакты:

Зайцева И.П. E-mail: irisha-zip@yandex.ru