

Метаболизм АКРЦ и их роль в продукции аминного азота при физической нагрузке

ЦНИЛ БГМУ

Обзор сосредоточен на метаболизме аминокислот с разветвленной цепью (АКРЦ) и их роли в продукции аминного азота в скелетной мускулатуре человека при физической нагрузке. В этих условиях АКРЦ - основной источник продукции аминного азота в скелетных мышцах. Во время нагрузки окисление АКРЦ возрастает, и большая их часть происходит от катаболизма белка. Различия происходящих при нагрузке метаболических процессов и (или) степень их выраженности зависят от видовых особенностей, типа активного мышечного волокна и пищевого статуса ткани.

Ключевые слова: АКРЦ, продукция аминного азота, физическая нагрузка.

I.A.Ijin

Metabolism BCAA and their role in aminonitrogen production at physical loading
The review is concentrated on a metabolism of branched chain amino acids (BCAA) and their roles in aminonitrogen production in human skeletal muscles at physical loading. In these conditions BCAA - the basic source of aminonitrogen production in skeletal muscles. During loading oxidation BCAA grows, and most of them occurs from protein catabolism. Distinction of metabolic processes occurring at loading and (or) a degree of their expressiveness depends on specific features, such as a type of active muscular fibre and the food status of the tissue.
Key words: BCAA, aminonitrogen production, physical loading.

На протяжении двух последних десятилетий метаболизм скелетных мышц был в центре внимания физиологов, изучающих работоспособность. В результате было достигнуто широкое понимание превращений углеводов и, в меньшей степени, жиров. Напротив, белковый и аминокислотный метаболизм исследован относительно мало, за исключением ситуаций, связанных с иммобилизацией. Но и в последнем случае больше внимания уделялось процессам белкового обмена, нежели исследованию метаболических процессов в целом. Незначительная роль как субстрата, широкий спектр специфических белков и разнообразие их T_{1/2}, а также многочисленные метаболические пути для различных аминокислот (АК), возможно, объясняют недостаточную изученность превращений белка. Хотя АК обеспечивают небольшую долю энергозатрат при краткосрочных нагрузках, при продолжительной мышечной работе эта доля возрастает до 5 - 10 % [21]. Становится все более очевидно, что обмен АК играет важную роль в метаболизме активной скелетной мышцы. Рассмотреть все аспекты такой широкой темы невозможно и такой задачи не ставилось, тем более что в последние годы были опубликованы обстоятельные обзоры как общие [21], так и сфокусированные на катаболизме белка [5], метаболизме АК [10, 24] и цикле пуриновых нуклеотидов [17, 23].

Этот обзор сосредоточен на метаболизме АК с разветвленной цепью (АКРЦ) и их роли в продукции аминного азота в скелетной мускулатуре человека при физической нагрузке.

Формы аминного азота в скелетной мышце

Продукция аминного азота является интегральным критерием белкового метаболизма при физической нагрузке. Для ее оценки в ткани типа скелетной мышцы, необходимо измерить не только NH_3 , но также и АК, которые могут синтезироваться в пределах ткани и, следовательно, функционировать как переносчики азота. Наиболее важные из них – глутамат, глутамин и аланин.



Рис.1: Центральная роль глутамата в метаболизме АК и NH_3 . Ключевые реакции катализируются глутаматдегидрогеназой (1), глутаминсинтетазой (2) и аланинаминотрансферазой (3). Глу, Глн и Ала обозначают глутамат, глутамин и аланин соответственно.

Глутамат образуется в различных реакциях трансаминирования и занимает центральное место в метаболизме АК (рис.1). Он может быть преобразован в кетоглутарат и NH_3 глутаматдегидрогеназой (что и происходит в мышце), объединяться под действием глутаминсинтетазы со свободным NH_3 с образованием глутамина, или в аланинаминотрансферазной реакции конвертироваться в аланин. Таким образом, формирование аланина может служить эквимолярным эквивалентом аминокислотного азота, а глутамин представляет собой двойной эквивалент. Эта ситуация становится еще более сложной, если учесть, что глутамат для глутаминсинтетазной и аланинаминотрансферазной реакции происходит не только от трансаминирования кетоглутарата, но также из внутриклеточного пула свободных АК или от эндогенного белка. Кроме того, глутамат может поступать из плазмы в значительных количествах. В этих ситуациях любое образование аланина не дает продукции аминокислотного азота, а любое формирование глутамина дает только одну, а не две молекулы его. Таким образом, истинное значение продукции аминокислотного азота (как результирующей процессов метаболизма белка) в скелетной мышце определяется формациями NH_3 , аланина и глутамина, а также значениями потенциально доступного глутамата от пула АК и белка мышц и плазмы.

В скелетных мышцах существует два главных источника возможной продукции аминного азота: окисление АК и цикл пуриновых нуклеотидов (ЦПН). Основное внимание в литературе уделено ЦПН, поэтому мы остановимся на вопросе окисления АК.

Окисление АК

Как обозначено на рис.2, аминокетогруппа переносится на кетоглутарат при участии АКРЦ-АТ с формированием глутамата. Образовавшиеся ККРЦ в дальнейшем окисляются в мышцах или транспортируются с этой целью в печень. Глутамат может быть преобразован в аланин или глутамин или дезаминироваться глутаматдегидрогеназой (ГДГ) с образованием NH_3 и кетоглутарата. Наконец, предложено [24], что глутамат может вовлекаться в реакцию трансаминирования с оксалоацетатом, при этом образуется кетоглутарат и аспартат. Теоретически последний при продолжительных нагрузках может дезаминироваться в ЦПН, предполагая, что его циклическая работа имеет место, хотя нет окончательных доказательств относительно того, что у человека ЦПН действительно играет такую роль. Кроме того, при длительных нагрузках, как показано ранее, образуется около 8.5 ммоль аминокетогруппы (включая переносчики). Это в 4-6 раз больше количества свободного аспартата, доступного в человеческой мышце [3, 20]. В течение осуществления работы концентрация аспартата в мышце увеличивается [3]. Плазменная концентрация аспартата низка (10 мкмоль) и остается постоянной, в то время как мышца выделяет аспартат [2]. Таким образом, проблематичная доступность аспартата является еще одной причиной, чтобы подвергнуть сомнению гипотезу о существовании значительной циклической работы ЦПН в скелетных мышцах человека при субмаксимальных нагрузках.

Другой метаболический маршрут для окисления АКРЦ вовлекает глутаматдегидрогеназу (ГДГ). Некоторые исследователи предположили низкую или даже незначительную активность ГДГ [4, 14]. Однако, в дальнейшем было установлено, что активность человеческой ГДГ у тренированных и нетренированных индивидуумов - 1.75 и 1 ммоль/(кг влажн. веса*мин) соответственно [26]. Эта активность многократно превышает наибольшее высвобождение NH_3 , наблюдаемое при максимальной нагрузке и подобна оцененной *in vivo* степени дезаминирования АМФ, основанной на накоплении ИМФ [13].

Активность ГДГ, большая, чем можно было бы ожидать при обычной мышечной деятельности, по-видимому, имеет важное значение. Однако роль ГДГ-реакции в продукции NH_3 остается нерешенной. Например, находясь в состоянии равновесия, она должна быть чувствительна к изменению концентраций субстратов и продуктов. Внутримышечная концентрация глутамата, как известно, снижается в течение осуществления работы, в то время как NH_3 - повышается. При этом интенсивность реакции, проходящей через ГДГ в направлении NH_3 , должна уменьшаться. Возможно, продукция NH_3 способствует расположению ГДГ исключительно в матриксе митохондрий.

Окисление лейцина, возрастающее, как было показано, в течение длительных нагрузок как у грызунов [10, 27], так и людей [10, 28] доказывает, что АКРЦ метаболизируются во время нагрузок. В соответствии с нашим предыдущим заключением, что специфические отличия ограничивают экстраполяцию данных от моделей с использованием грызунов, было отмечено [10], что окисление лейцина больше у человека, чем у крыс. Также было продемонстрировано [2], что в течение 4 ч легкой нагрузки АКРЦ выделялись внутренними органами и захватывались активной мышцей, в то время как большинство АК (кроме глутамата), напротив, выделялось мышцами и поглощалось печенью. Кроме того,

было показано 70 %-е поглощение АКРЦ скелетными мышцами после употребления инфузии АК [8]. Существуют и некоторые сомнения в том, что в течение выполнения работы активные мышцы – главное место метаболизма АКРЦ, т.к. метаболический путь для обработки аминокрупп остается неясным. Кроме того, опубликовано мало информации относительно степени окисления АКРЦ непосредственно в мышечной ткани.

За окисление АКРЦ ответственны два фермента – АКРЦ-трансаминаза и ККРЦ-дегидрогеназа (ККРЦ-ДГ). Трансаминаза отвечает за удаление аминокрупп, и ее активность наивысшая в скелетных мышцах. Тем временем, наибольшая фракция скорость-ограничивающего фермента, ККРЦ-ДГ, расположена в печени. Мышечная ткань содержит 60 % общего количества специфических ферментов для окисления АК [15]. В покое в скелетной мышце крысы активно 6 % ККРЦ-ДГ, в то время как 98 % активно в печени [25]. Недавно было продемонстрировано, что в скелетной мышце у человека в состоянии покоя активность ККРЦ-ДГ составляет 4 % [24]. Таким образом, с учетом низкой активности фермента в мышце в покое, можно заключить, что метаболизм АКРЦ только начинается в мышцах. Это подтверждается данными о том, что в покое ККРЦ переносились из скелетных мышц в печень для окисления [22].

ККРЦ-ДГ расположена в митохондриальном матриксе и представляет собой классический мультикомплексный фермент. Его активность регулируется обратимым фосфорилированием. Было предложено много возможных регуляторов ККРЦ-ДГ комплекса, включая лейцин, ККРЦ, АТФ, H^+ , ацетил-КоА, соотношение НАД⁺/НАДН, другие субстраты, а также различные гормоны, включая инсулин и глюкокортикоиды. Хотя большинство из них спекуляторы, для некоторых была доказана способность увеличивать активность ККРЦ-ДГ в мышцах. Например, было продемонстрировано [12], что доля активной формы ККРЦ-ДГ в мышце крысы может возрасти с увеличением интенсивности и длительности нагрузки. Недавно подобные результаты были сообщены для мышц человека. Величина отмеченной активации (13-66 % общего количества) может быть недооцененной, поскольку использованные методы не позволяли быстро осуществлять забор и обработку ткани. Однако очевидно, что активная скелетная мышца повышает способность окислять АКРЦ.

ККРЦ-ДГ комплекс регулируется изменением концентраций субстратов и продуктов, как и изменением энергетического состояния клетки [24]. При повышении ацетил-КоА, конечного продукта декарбоксилирования лейцина, активная форма фермента фосфорилируется, вызывая уменьшение активности фермента. Повышение в митохондриях АДФ и соотношения НАД⁺/НАДН активирует ККРЦ-ДГ, в то время как высокие концентрации АТФ и креатинфосфата ингибируют ферментный комплекс. Точно так же повышенная концентрация лейцина стимулирует лейциновое окисление и увеличивает активность ККРЦ-ДГ комплекса [1].

Относительная доступность углеводов в течение выполнения работы, как сообщалось, влияла на индуцированную нагрузкой активацию ККРЦ-ДГ [24]. При этом общая активность фермента не была изменена, но процент активной формы был значительно выше при исчерпании запасов углеводов по сравнению с тем, когда они были в достатке.

Ограниченные доступные данные об изменениях ККРЦ во время нагрузок поддерживают концепцию, по которой в активной мышце окисление АКРЦ повышается. Сообщается, что в течение выполнения интенсивной нагрузки концентрация ККРЦ в плазме оставалась постоянной даже при том, что внутримышечное содержание почти удваивалось [7]. Также было отмечено, что плазменная концентрация ККРЦ снижалась в течение длительной нагрузки и резко повышалась после окончания работы [7, 22]. Это происходит, вероятно, из-за дезактивации мышечной ККРЦ-ДГ, что приводит к увеличению выделения ККРЦ. Недавно был проведен эксперимент по назначению АКРЦ или ККРЦ пациенту с синдромом МакАрдля [24]. Установлено, что во время нагрузки АКРЦ повышают плазменную концентрацию NH₃, в то время как ККРЦ уменьшают ее.

Основываясь на очень ограниченном числе исследований можно предположить, что окисление АКРЦ в мышце увеличивается при нагрузке, что связано с повышением активности ККРЦ-ДГ. Факторы, регулирующие это повышение, неясны. Конечно, увеличение внутримышечного содержания ККРЦ должно стимулировать дефосфорилирование (активацию) ДГ, но изменения других предполагаемых модуляторов остаются невыясненными. Фермент расположен в митохондриях, с чем связана сложность определения изменений внутримитохондриального содержания АТФ, АДФ, НАДН и ацетилКоА.

Источник АКРЦ также не определен. Внутримышечный пул свободных АКРЦ незначителен и остается постоянным во время работы [3, 20, 22]. Ранее упоминалось о направленности обмена АКРЦ между внутренними органами (преимущественно печенью) и активными мышцами при 4 ч нагрузке умеренной мощности (30 % МПК) [2]. Однако, при более короткой продолжительности работы (40 минут) у человека величина высвобождения АКРЦ в мышцах бедра незначительна.

Вероятно, главный источник АКРЦ и других АК во время нагрузки – катаболизм белка. В течение работы имеет место значительный суммарный катаболизм белка [5, 21], и это говорит о том, что активная мышца - один из основных его участков [5, 24]. Мышцы содержат 60-70% общего белка тела, и неоднократно сообщалось о том, что при нагрузке в мышцах происходит потеря аминного азота в виде АК [2, 6]. Даже исключая аланин и глутамин, которые составляют около 50 % от общего количества аминной утечки, остается еще существенная доля потери АК. Следовательно, должна иметь место внутримышечная дегградация белка, так как суммарное содержание АК в мышцах, а также пул незаменимых АК увеличиваются после нагрузки, несмотря на то, что пул АКРЦ остается постоянным [3, 20].

По некоторым данным [2, 6] во время нагрузки мышцы выделяют незначительное количество АК, в т.ч. и незаменимых. При измерении обмена АК в мышцах у мужчин, тренирующихся на уровне нагрузки 80% МПК в квадрицепсе [9], отмечалось прогрессивное увеличение выделения NH₃, глутамина и аланина. Оцененная утечка АК составила 12.8 ммоль за час, из них 24% АК были незаменимыми. Выделение гидроксипролина (индикатор распада коллагена) было минимально, как и 3-метилгистидина (маркер катаболизма сократительного белка), что предполагает отсутствие катаболизма сократительных белков и соединительной ткани и соответствует результатам

других авторов [11, 22]. Однако в одном сообщении отмечено, что сократительный белок катаболизировался во время нагрузки или в течение восстановления [5]. Вероятно, что более травмирующие нагрузки типа бега, эксцентричных сокращений или работы до глубокого утомления могут привести к выраженному и разнообразному катаболизму белка.

Причины такого катаболизма остаются неясными. Однако было продемонстрировано, что глюконеогенные АК (аланин, являющийся основным, но не единственным прекурсором) - важные поставщики субстрата для печеночного глюконеогенеза, обеспечивают около 25-40 % глюкозы, полученной при этом процессе [2, 6]. Это может иметь существенное значение не только в течение продолжительных нагрузок, но также и в любой другой ситуации, угрожающей гипогликемией.

Кроме того, было предложено, что при аминной утечке в виде NH₃ повышаются внутримышечные буферные свойства и стимулируется фосфофруктокиназная активность. Однако абсолютные концентрации NH₃ слишком малы, чтобы быть значительным буфером, и важность NH₃ в регулировании фосфофруктокиназы *in vivo* неясна. Это может быть просто "цена", побочный продукт эссенциальных процессов ЦПН и катаболизма АК, преимущественно АКРЦ. Чтобы минимизировать концентрацию этого потенциально токсического соединения при продолжительных нагрузках, когда общее количество образованного NH₃ намного больше, чем при краткосрочной, интенсивной работе, большая часть аминной утечки приходится на аланин и глутамин.

Факторы, влияющие на продукцию аминокислот при тренировке

Как и другие аспекты этой общей темы, данный вопрос мало изучен. Ранее отмечено, что потребление АКРЦ увеличивало плазменную концентрацию NH₃ при нагрузке у пациента с синдромом МакАрдля, в то время как применение ККРЦ приводило к обратному [24]. Также сообщалось, что, если глюкоза-содержащие добавки применялись в течение длительной нагрузки, имела место дезактивация ККРЦ-ДГ и меньшее увеличение NH₃ в плазме. При высоком содержании гликогена в мышцах, мочевина пота снижалась на 50 % во время продолжительной работы, а утилизация белка при этом составила 10.4 и 4.4 % общих энергозатрат для низко- и высокоуглеводной диеты [16]. При низком уровне мышечного гликогена после 3 дней низкоуглеводной диеты было определено намного более быстрое повышение NH₃ в плазме во время длительных нагрузок [19]. Так же было показано [19], что низкоуглеводная диета повышала плазменную концентрацию АКРЦ. Последнее, вместе с другими данными [24], предполагает, что эффекты могут быть опосредованы активацией ККРЦ-ДГ. Эти данные свидетельствуют о глубоком взаимодействии между белковым и углеводным метаболизмом.

Жировой метаболизм может также взаимодействовать с обменом белка и аминокислот. При повышении концентрации в плазме свободных жирных кислот (СЖК) в восстановительном периоде у испытуемых отмечено снижение содержания АК в плазме [9]. Причем, при удвоении артериальной концентрации СЖК посредством интралипидной инфузии, в течение часа выполнения нагрузки с использованием модели разгибания бедра, выделение NH₃ в бедре было меньше и артериальная концентрация АК значительно снизилась. Механизм этой уменьшенной продукции NH₃ остается неустановленным. Однако это еще

раз подчеркивает многообразие взаимодействий между метаболизмом жиров, углеводов и белков.

Заключение

Очевидно, что вопрос метаболизма АКРЦ и аминного азота требует большого дальнейшего изучения. Это важные аспекты обмена при метаболическом стрессе, который имеет место при физической нагрузке, голодании или при различных болезненных состояниях мышц. Продукция аминного азота может быть связана с дезаминированием АКРЦ, АМФ или аспартата. АКРЦ являются основным источником продукции аминокислот при физической нагрузке, так как преимущественно метаболизируются скелетными мышцами, причем во время нагрузки их окисление возрастает. В этих условиях большая часть АКРЦ для окисления происходит от катаболизма белка. Прием экзогенных АКРЦ может предупредить или уменьшить катаболизм мышечного белка при физической работе. Эти факты следуют из предыдущих работ, цитируемых в данном обзоре, однако степень и обстоятельства возможных при этом метаболических событий, остаются невыясненными. Различия происходящих при нагрузке процессов и (или) степень их выраженности зависит от видовых особенностей, типа активного мышечного волокна и пищевого статуса ткани.

Литература

- 1) Aftring R. P., Miller W. J., Buse M. G. Effects of diabetes and starvation on skeletal muscle branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity. *Am. J. Physiol.* 1988.254: E292-E300.
- 2) Ahlborg G., Felig P., Hagenfeldt L. et al. Substrate turnover during prolonged exercise in man. Splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids and amino acids. *J. Clin. Invest.* 1974. 53: 1080-1090.
- 3) Bergstrom J., Furst P., and Hultman E. Free amino acids in muscle tissue and plasma during exercise in man. *Clin. Physiol.* 1985. 5: 155-160.
- 4) Broberg S. and Sahlin K. Adenine nucleotide degradation in human skeletal muscle during prolonged exercise. *J. Appl Physiol.* 1989. 67: 116-122.
- 5) Dohm G. L. Protein as a fuel for endurance exercise. *Exercise Sport Sci. Rev.* 1986. 14: 143-173.
- 6) Felig P., Wahren J. Amino acid metabolism in exercising man. *J. Clin. Invest.* 1971. 50: 2703-2714.
- 7) Fielding R. A., Evans W. J., Hughes V. A. et al. The effects of high intensity exercise on muscle and plasma levels of alpha-ketoglutaric acid. *Eur.J. Appl. Physiol.* 1986. 55: 482-485.
- 8) Gelfand R. A., Glickman M. G., Jacob R. et al. Removal of infused amino acids by splanchnic and leg tissues in humans. *Am. J. Physiol.* 1986. 250: E407-E413.
- 9) Graham T. E., Bangsbo J., Gollnick P. D. et al. Ammonia metabolism during intense, dynamic exercise in recovery in humans. *Am. J. Physiol.* 1990. 259: E170-E176.
- 10) Hood D. A., Terjung R. L. Amino acid metabolism during exercise following endurance training. *Sports Med.* 1990. 9: 23-35.
- 11) Kasperek G. J., Snider R. D. Total and myofibrillar protein degradation in isolated soleus muscles after exercise. *Am.J.Physiol.* 1989. 257: E1-E5.

- 12) Kasperek G. J., Dohm G. L., Snider R. D. Activation of branched-chain keto acid dehydrogenase by exercise. *Am.J.Physiol.* 1985. 248: R166-R171.
- 13) Katz A., Sahlin K., Henriksson J. Muscle ammonia metabolism during isometric contraction in humans. *Am. J. Physiol.* 1986a. 250: C1-C7.
- 14) Katz A., Broberg S., Sahlin K. et al. Muscle ammonia and amino acid metabolism during dynamic exercise in man. *Clin. Physiol. (Oxf.)*, 1986b. 6: 365-379.
- 15) Khatra B. S., Chawla R. K., Sewell C. W. et al. Distribution of branched chain alpha-keto acid dehydrogenases in primate tissues. *J. Clin. Invest.* 1977. 59: 558-564.
- 16) Lemon P. W. R. Protein and exercise: update. *Med. Sci. Sports Exercise*, 1987. 19: S179-S190.
- 17) Lowenstein J. M. The purine nucleotide cycle revisited. *Int.J Sports Med.* 1990. 11(Suppl. 2): S47-S55.
- 18) Lund P. Metabolism of glutamine, glutamate and aspartate. In *Nitrogen metabolism in man*. Edited by J. C. Waterlow and J. M. L. Stephen. Applied Science Publishers, Essex, U.K. 1980. pp. 155-169.
- 19) MacLean D. A., Graham T. E., and Spriet L. L. Carbohydrate supply and amino acid and ammonia metabolism during prolonged exercise. *Med. Sci. Sports Exercise*. 1989. 18: S106.
- 20) MacLean D. A., Spriet L. L., Hultman E. et al. Plasma and muscle amino acid and ammonia responses during prolonged exercise in humans. *J. Appl. Physiol.* 1991.
- 21) Poortmans J. R. Protein turnover and amino acid oxidation during and after exercise. *Medicine Sports Sci.* 1984. 17: 130- 147.
- 22) Rennie M. J., Edwards R. H. T., Krywawych S. et al. Effects of exercise on protein turnover in man. *Clin. Sci. (Lond.)*. 1981. 61: 627-639.
- 23) Tullson P. C., Terjung R. L. Adenine nucleotide degradation in striated muscle. *Int. J. Sports Med.* 1990. 11(Suppl. 2): S47-S55.
- 24) Wagenmakers A. J. M., Coakley J. H., Edwards R. H. T. Metabolism of branched-chain amino acids and ammonia during exercise: clues from McArdle's disease. *Int. J. Sports Med.* 1990. 11(Suppl. 2): S101-S113.
- 25) Wagenmakers A. J. M., Schepens J. T. G., Veldhuizen J. A. M. et al. The activity state of the branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase complex in rat tissue. *Biochem. J.* 1984. 220: 273-281.
- 26) Wibom R., Hultman E. ATP production rate in mitochondria isolated from microsomes of human muscle. *Am. J. Physiol.* 1990. 259: E204-E209.
- 27) White T. P., Brooks G. A. [U-14C]Glucose, -alanine, and -leucine oxidation in rats at rest and two intensities of running. *Am. J. Physiol.* 1981.240: E155-E165.
- 28) Wolfe R. R., Goodenough R. D., Wolfe M. H. et al. Isotopic analysis of leucine and urea metabolism in exercising humans. *J. Appl. Physiol.* 1982. 52: 458—466.