
АМИНОКИСЛОТЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ И СПИННО-МОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ КАННЕРА

А.С. Горина

Sick Children Hospital Research Institute
555 University Ave., Toronto, ON M5G, Canada

Л.С. Колесниченко

Кафедра химии и биохимии
Иркутский государственный медицинский университет
ул. Красногосударственный Восстания, 1, Иркутск, Россия, 664003

В.И. Михнович

НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН
ул. Тимирязева, 16, Иркутск, Россия, 664003

У детей с синдромом Каннера измерялись концентрации аминокислот в сыворотке крови и в спинно-мозговой жидкости (СМЖ). В сыворотке крови повышены аспарат, таурин и глутамин и понижены β -аланин, метионин и глицин. В СМЖ повышались аспарат, глутамин, ГАМК, таурин и аргинин и понижался метионин. Большинство изменений в сыворотке крови происходили параллельно с СМЖ, но были более выражены, чем в СМЖ. Наряду с дефицитом метионина, β -аланина и глицина предполагается усиление транспорта глутамина, аспартата и таурина через гематоэнцефалический барьер. Предполагается также дисбаланс возбуждающих и тормозных медиаторов в мозге.

Ключевые слова: синдром Каннера, ранний детский аутизм, аминокислоты, гематоэнцефалический барьер, нейромедиаторы.

Синдром Каннера (аутизм) — первазивный синдром развития, имеет начало от рождения до 36 месяцев жизни ребенка и характеризуется аутистической отгороженностью от реального мира, неспособностью к социальным взаимодействиям, неравномерным созреванием психической, речевой, моторной и эмоциональной сфер жизнедеятельности. Встречаемость аутизма — 0,3%, приблизительно половина случаев заболеваний аутистического спектра [1].

Нарушения в содержании аминокислот и их метаболитов в организме — одна из причин возникновения различных патологических процессов (прежде всего дисфункций нервной системы) и развития ряда нервных и психических заболеваний, особенно в детском возрасте. Выдвинута гипотеза повреждающего действия дисбаланса аминокислот на развивающийся мозг [2].

Нейромедиаторные аминокислоты и их рецепторы принимают участие в формировании фундаментальных процессов нервной деятельности: синаптической пластичности; нейрональной памяти и обучения; регуляции полимодальных сенсорных систем мозга; поддержании судорожного порога; регуляции мышечного тонуса; физиологических механизмов сна, тревоги и агрессии; чувствительности ЦНС к гипоксии и гипогликемии [2; 3].

Связь между аномальным метаболизмом аминокислот и аутизмом предполагалась давно [3], и большинство исследований свидетельствует о таких изменениях при аутизме. Однако литературные данные очень противоречивы, вероятно, из-за нечеткости клинических критериев диагностики, разнородных методов исследований и недостаточного количества обследованных пациентов [2; 3].

Цель настоящей работы — установление ассоциации между содержанием аминокислот в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у детей и симптомами синдрома Каннера.

Материалы и методы. Было обследовано 47 детей с синдромом Каннера в возрасте от трех до семи лет из детского областного реабилитационного центра и клиники нервных болезней института педиатрии и репродукции человека ВС НЦ СО РАМН и клиники медицинского факультета университета Генриха Гейне (Дюссельдорф, Германия). Синдром Каннера (аутизм) определялся с использованием критериев международной классификации психических заболеваний МКБ-10 для диагностики аутичного расстройства у детей. Группу контроля составили 150 детей. Проводился перекрестный анализ проб крови и спинно-мозговой жидкости (СМЖ), отобранных в России и Германии (с применением двойного слепого метода) в целях повышения качества анализов и воспроизводимости результатов исследований. Исследования были проведены с соблюдением международных стандартов и биоэтических норм, в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Аминокислоты разделялись на системе высокопроизводительной жидкостной хроматографии с переключением колонок (HPLC-725 CAPI; Tosoh Corp, Japan) и измерялись методом селективной флуорометрической детекции с использованием флуорометра Шимадзу RF-10AXL по методике Сигала с соавторами [4]. Данные представлялись как среднее \pm стандартная ошибка. Для сравнения средних применялся *t*-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке гипотез $p = 0,05$.

Результаты исследования. Исследования сыворотки крови выявили значительное повышение содержания аспартата (на 53%), и менее значительное — таурина и глутамина (на 29%). Концентрации ряда аминокислот понижены, в первую очередь β -аланина (на 74%), в меньшей степени метионина (на 33%) и глицина (на 14%) (табл. 1). Анализ спинномозговой жидкости (табл. 2) показал значительное повышение концентрации аргинина (114%), аспартата (на 63%), глутамина (на 23%) и ГАМК (на 19%), а также умеренное повышение содержания таурина (на 37%) и понижение концентрации метионина (на 22%). В целом в сыворотке крови была повышена сумма аминокислот системы А/ASC (на 10%), а в спинномозговой жидкости — суммы аминокислот систем А/ASC (на 16%), β (на 18%), X-AG- (на 30%) и у+ (на 44%).

Изменения в уровне аминокислот в сыворотке крови при раннем детском аутизме (синдром Каннера), $M \pm m$. Аминокислоты сгруппированы по транспортным системам

Транспортные системы аминокислот	Аминокислоты	Нейромедиаторная функция	Сыворотка (мкмоль/л) ^a	
			контроль	синдром Каннера
			N = 150	N = 47
A/ASC	Аланин		374,88 ± 11,83	387,44 ± 17,16
	Аспарагин		52,08 ± 1,00	51,70 ± 1,88
	Глутамин		453,36 ± 9,27	575,09 ± 18,49***
	Метионин		24,03 ± 0,56	17,01 ± 0,72***
	Серин		116,39 ± 2,28	106,72 ± 4,35
	Треонин		82,39 ± 2,29	80,81 ± 2,59
	Цистеин		75,49 ± 1,69	74,37 ± 2,53
	СУММАРНО		1178,62 ± 15,51	1293,14 ± 25,93***
β	β-аланин		35,12 ± 0,87	9,35 ± 0,41***
	Таурин	ТормНейр	119,62 ± 3,37	157,51 ± 5,16***
	СУММАРНО		154,74 ± 3,48	166,86 ± 5,18
Gly	Глицин	ТормНейр	252,79 ± 5,94	218,23 ± 7,79***
L	Валин		257,59 ± 5,17	255,16 ± 10,29
	Изолейцин		92,23 ± 2,43	104,46 ± 5,71
	Лейцин		187,79 ± 4,22	186,88 ± 7,06
	Тирозин	пВозбНейр	80,23 ± 2,18	79,79 ± 3,30
	Триптофан	пВозбНейр	80,07 ± 2,21	83,88 ± 2,70
	Фенилаланин	предшТир	68,18 ± 1,52	68,65 ± 2,57
	СУММАРНО		766,09 ± 7,90	778,82 ± 14,60
X _{AG} ⁻	Аспартат	ВозбНейр	21,70 ± 0,42	32,37 ± 1,46***
	Глутамат	ВозбНейр	78,22 ± 2,22	70,79 ± 3,05
	СУММАРНО		99,92 ± 2,26	103,16 ± 3,38
y+	Аргинин	предшNO	91,53 ± 2,58	101,79 ± 4,52
	Гистидин		90,32 ± 3,05	106,26 ± 7,49
	Лизин		137,28 ± 3,43	134,84 ± 4,51
	Орнитин		65,65 ± 2,22	64,74 ± 2,52
	СУММАРНО		384,78 ± 5,71	407,63 ± 10,16
	Пролин		147,84 ± 4,77	143,28 ± 5,99
	ГАМК	пТрмНейр	0,406 ± 0,011	0,414 ± 0,015

Примечание: значимость отличий от контроля: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$. ТормНейр — тормозной нейромедиатор, пВозбНейр — предшественник возбуждающих нейромедиаторов, предшТир — предшественник тирозина, ВозбНейр — возбуждающий нейромедиатор, предшNO — предшественник NO, пТрмНейр — преимущественно тормозной нейромедиатор. ^a — концентрация ГАМК в нмоль/л.

**Изменения в уровне аминокислот в спинномозговой жидкости (СМЖ)
при раннем детском аутизме (синдром Каннера), $M \pm m$.
Аминокислоты сгруппированы по транспортным системам**

Транспортные системы аминокислот	Аминокислоты	Нейромедиаторная функция	СМЖ (мкмоль/л) ^a	
			контроль	синдром Каннера
			N = 55	N = 47
A/ASC	Аланин		14,86 ± 0,46	15,10 ± 0,48
	Аспарагин		5,27 ± 0,14	5,47 ± 0,27
	Глутамин		405,39 ± 12,4	499,29 ± 3,74***
	Метионин		2,29 ± 0,06	1,78 ± 0,06**
	Серин		17,94 ± 0,42	18,71 ± 0,80
	Треонин		15,35 ± 0,41	16,00 ± 0,49
	Цистеин		35,31 ± 1,03	35,47 ± 0,87
	СУММАРНО		496,41 ± 12,47	575,82 ± 3,99***
β	β-аланин		14,19 ± 0,5	15,94 ± 1,01
	Таурин	ТормНейр	3,87 ± 0,08	5,32 ± 0,10***
	СУММАРНО		18,06 ± 0,51	21,26 ± 1,01**
Gly	Глицин	ТормНейр	4,88 ± 0,12	4,81 ± 0,08
L	Валин		21,18 ± 0,47	22,02 ± 0,2
	Изолейцин		3,70 ± 0,11	3,48 ± 0,17
	Лейцин		9,73 ± 0,27	10,44 ± 0,3
	Тирозин	пВозбНейр	7,67 ± 0,24	7,51 ± 0,12
	Триптофан	пВозбНейр	2,12 ± 0,04	2,31 ± 0,09
	Фенилаланин	предшТир	6,87 ± 0,23	6,84 ± 0,13
	СУММАРНО		51,27 ± 0,65	52,60 ± 0,45
X _{AG} ⁻	Аспартат	ВозбНейр	0,48 ± 0,01	0,78 ± 0,02***
	Глутамат	ВозбНейр	0,58 ± 0,01	0,6 ± 0,01
	СУММАРНО		1,06 ± 0,01	1,38 ± 0,02***
y ⁺	Аргинин	предшNO	17,30 ± 0,34	37,07 ± 1,29***
	Гистидин		10,41 ± 0,29	11,15 ± 0,31
	Лизин		13,50 ± 0,31	13,10 ± 0,28
	Орнитин		5,33 ± 0,12	5,54 ± 0,14
	СУММАРНО		46,54 ± 0,56	66,86 ± 1,36***
	Пролин		3,59 ± 0,10	3,52 ± 0,05
	ГАМК	пТрмНейр	129,81 ± 3,27	153,88 ± 1,95***

Примечание: значимость отличий от контроля: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$. ТормНейр — тормозной нейромедиатор, пВозбНейр — предшественник возбуждающих нейромедиаторов, предшТир — предшественник тирозина, ВозбНейр — возбуждающий нейромедиатор, предшNO — предшественник NO, пТрмНейр — преимущественно тормозной нейромедиатор. ^a — концентрация ГАМК в пмоль/л.

Обсуждение результатов. В сыворотке и СМЖ у детей с ранним детским аутизмом (синдром Каннера) изменения затрагивают преимущественно аминокислоты, транспортируемые системами A/ASC (глутамин, метионин), X-AG- (аспартат), β (β-аланин, таурин), и отдельные аминокислоты, транспортируемые другими

системами: у⁺ (аргинин), глицин и ГАМК. Концентрации ГАМК и аргинина повышались только в СМЖ.

Ряд обнаруженных нами изменений согласуется с данными литературы, такими как дефицит метионина в крови при нарушениях развития у детей [5], повышение в сыворотке крови таурина, глицина [6] и аспартата [7]. Исследования содержания аминокислот в СМЖ при аутизме немногочисленны [7], но подтверждают наши результаты, в частности повышение содержания таурина. Вместе с тем наши результаты не подтверждают понижения в крови концентрации глутамина, повышения аспарагина и аланина или, напротив, понижения аспарагина и фенилаланина плазмы [7], а также дефицита цистеина плазмы при нарушениях развития у детей [5].

Аминокислоты и продукты их метаболизма могут выполнять функции нейромедиаторов и нейромодуляторов в нервной системе, а также быть предшественниками нейромедиаторов. Фенилаланин — метаболический источник тирозина, который в свою очередь — источник L-DOPA, дофамина, норадреналина и адреналина. Дефицит триптофана (предшественника серотонина) ухудшает ряд аутистических симптомов [2]. Недостаток фенилаланина, триптофана и тирозина в крови ассоциируется со снижением синтеза катехоламинов и серотонина в головном мозге вероятно из-за недостаточного транспорта этих аминокислот в мозг [8]. Дефицит метионина и цистина возможен при нарушении всасывания и обмена этих аминокислот и пониженной устойчивости к оксидативному стрессу [5]. Цистеин оказывает тормозящее действие на нервную систему, и его избыток может оказывать успокаивающее действие на детей с аутизмом [6]. Глутамат и аспартат — возбуждающие нейромедиаторы, глутамат также — источник ГАМК, основного тормозного нейромедиатора в мозге млекопитающих. Угнетение ГАМК-ергической трансмиссии отмечено при аутизме [2], и понижение активности ГАМК-трансаминазы может быть причиной резкого повышения уровня ГАМК в крови. Глицин также является тормозным нейромедиатором.

Аминокислоты транспортируются через гематоэнцефалический барьер из крови в мозг с помощью транспортных систем. Каждая из систем транспортирует аминокислоты сходной химической природы. L-система транспортирует большие нейтральные аминокислоты (неполярные и ароматические), A/ASC — система — малые нейтральные аминокислоты (преимущественно полярные), у⁺ система — позитивно заряженные аминокислоты, β система — таурин и β-аланин [9]. Аминокислоты одной транспортной системы конкурируют за доступ к системе, так что избыток одной аминокислоты может помешать транспорту другой. Связь аутизма и нарушений в транспорте L- и A/ASC-систем отмечена в литературе [10]. Изменение уровня аминокислот в крови способно нарушить баланс аминокислот, конкурирующих за одну и ту же транспортную систему [7].

Повышение уровня аминокислоты как в сыворотке, так и в СМЖ можно интерпретировать как успешный транспорт через гематоэнцефалический барьер, повышение только в сыворотке, но не в СМЖ — как нарушение транспорта, а понижение в сыворотке в отсутствие изменений в СМЖ — как недостаток аминокис-

лоты в сыворотке. Таким образом, можно предположить, что нарушения транспорта аминокислот через гематоэнцефалический барьер не обнаруживаются, тогда как усилен транспорт в СМЖ глутамина, аспартата и таурина и наблюдается недостаток в сыворотке крови метионина, β -аланина и глицина.

При синдроме Каннера в СМЖ обнаружено повышение концентраций возбуждающего нейротрансммиттера аспартата и тормозных нейромедиаторов таурина и ГАМК. На основании понижения в плазме крови глицина, одного из основных тормозных нейромедиаторов [7], предполагается нарушение тормозной нейротрансмиссии, однако обнаружить статистически значимые изменения уровня глицина в СМЖ в настоящем исследовании не удалось.

Заключение. У детей с ранним детским аутизмом при синдроме Каннера уровни аминокислот, принадлежащих к нескольким транспортным системам (прежде всего А/АСС, X-AG-, β , у+), изменены в сыворотке и СМЖ. Обнаруженные изменения не полностью согласуются с данными литературы. Ряд изменений может быть интерпретирован как усиление транспорта аминокислоты через гематоэнцефалический барьер или как дефицит аминокислоты в крови. В СМЖ повышены концентрации возбуждающего нейромедиатора аспартата, но также тормозных нейромедиаторов таурина и ГАМК.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Robel L.* Evolution of the concept of autism // *Rev. Prat.* — 2010. — Vol. 60. — № 3. — P. 376—378.
- [2] *McDougle C.J., Naylor S.T., Cohen B.I.D.J. et al.* Effects of tryptophan depletion in drug-free adults with autistic disorder // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 1996. — V. 53. — № 11. — P. 993—1000.
- [3] *Sutton H.E., Read J.H.* Abnormal amino acid metabolism in a case suggesting autism // *A.M. A.J. Dis. Child.* — 1958. — V. 96. — № 1. — P. 23—28.
- [4] *Seegal R.F., Broach K.O., Bush B.* High-performance liquid chromatography of biogenic amines and metabolites in brain, cerebrospinal fluid, urine and plasma // *J. Chromatogr.* — 1986. — V. 377. — P. 131—144.
- [5] *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. — V. 141B. — № 8. — P. 947—956.
- [6] *Polleux F., Lauder J.M.* Toward a developmental neurobiology of Autism // *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* — 2004. — V. 10. — № 4. — P. 303—317.
- [7] *Aldred S., Moore K.M., Fitzgerald M., Waring R.H.* Plasma amino acid levels in children with autism and their families // *J. Autism Dev. Disord.* — 2003. — V. 33. — № 1. — P. 93—97.
- [8] *Горина А.С., Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. и др.* Изменения содержания триптофана и его метаболитов у детей с ранним детским аутизмом // *Бюлл. СО РАМН.* — Новосибирск. — 2010. — Т. 30. — № 5. — С. 19—24.
- [9] *Ohtsuki S., Terasaki T.* Contribution of carrier-mediated transport systems to the blood-brain barrier as a supporting and protecting interface for the brain; importance for CNS drug discovery and development // *Pharm. Res.* — 2007. — V. 24. — № 9. — P. 1745—1758.
- [10] *Fernell E., Karagiannakis A., Edman G. et al.* Aberrant amino acid transport in fibroblasts from children with autism // *Neurosci. Lett.* — 2007. — V. 418. — № 1. — P. 82—86.

AMINO ACIDS IN SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID OF CHILDREN WITH KANNER SYNDROME

A.S. Gorina

Sick Children Hospital Research Institute
555 University Ave., Toronto, ON M5G, Canada

L.S. Kolesnichenko

Department of Chemistry
Irkutsk State Medical University
Krasnogo Vosstania str., 1, Irkutsk, Russia, 664003

V.I. Mikhnovich

Russian Research Institute for Health Family Problems
and Human Reproduction *SB RAMS*
Timiryazev str., 16, Irkutsk, Russia, 664003

Levels of amino acids in serum and cerebrospinal fluid (CSF) were measured in children with Kanner syndrome. Serum aspartate, taurine and glutamine were increased whereas β -alanine, methionine and glycine decreased. In CSF, aspartate, glutamine, GABA, taurine and arginine increased and methionine decreased. Majority of changes in serum were parallel to the changes in CSF, but the changes in serum were more pronounced than in CSF. Together with the deficit in methionine, β -alanine and glycine, obtained data suggest intensification of transportation of glutamine, aspartate and taurine into CSF through blood-brain barrier. Changes in the concentrations of neurotransmitter amino acids (aspartate, taurine) may indicate an imbalance of excitatory and inhibitory mediators in brain.

Key words: Kanner syndrome, childhood autism, amino acids, blood-brain barrier, neurotransmitters.