

**Обзоры, проблемы**

УДК 636.018:577.11:57

doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.635rus

**D-АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ОКСИДАЗА У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ: РОЛЬ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ**  
(обзор)**В.П. ГАЛОЧКИНА, А.В. АГАФОНОВА, В.А. ГАЛОЧКИН**

В статье систематизированы основные физиолого-биохимические функции D-аминокислот и их оксидазы, открытых Г. Кребсом в 1935 году (H. Krebs, 1972), в организме высших животных. Обсуждается участие оксидазы D-аминокислот в обмене веществ в норме и при патологии. В настоящее время самое пристальное внимание уделяется сигнальной, коммуникативной и регуляторной роли пероксисом в обмене веществ. Допускается, что они могут осуществлять взаимосвязь между нервной и эндокринной системами и быть причастны к регуляции обмена веществ в клетке, органе и организме. D-аминокислоты (стереоизомеры L-аминокислот) в значительных количествах обнаружены в пероксисомах в нервной системе (J. Sasabe с соавт., 2014), эндокринных железах (A. D'Aniello с соавт. 2000), печени, почках, молочной железе и других органах и тканях (S.V. Khoronenkova, V.I. Tishkov, 2008). Эти активные молекулы в синапсах нервных окончаний обеспечивают коммуникацию в нейрональной сети (C.W. Morgans с соавт., 2013), участвуют в процессах клеточного старения и апоптоза (А.В. Червяков, 2010), секреции и биосинтеза гормонов, регуляции кровяного давления, в поддержании осмотического давления в клетке (Y. Nishina, 2008), антиканцерогенезе и противовоспалительных реакциях (G.H. Fisher, 1998). Оксидаза D-аминокислот самым разнообразным образом влияет на организм в целом, поскольку одновременно участвует в противоположных мультипараметрических процессах: регуляции содержания D-аминокислот и D-аминов аминокислот в клетке, деятельности центрального и периферического отделов нервной системы, в регуляции биосинтеза и секреции эпифизарного мелатонина (Н.К. Park с соавт., 2007), гипоталамических релизинг-факторов, гипофизарных, тиреоидных и стероидных гормонов (A. Santillo с соавт., 2014), в защите от ксенобиотиков, микроорганизмов, вирусов, стрессов, борьбе со злокачественными опухолями (R. Rana с соавт., 2012). Особое внимание мы уделили выяснению роли D-аминокислот и их оксидазы у сельскохозяйственных животных, поскольку в мировой литературе такие работы почти полностью отсутствуют. В последнее время появляются публикации, посвященные углубленному анализу влияния D-аминокислот и оксидазы D-аминокислот на всю иерархическую структуру эндокринной системы — от эпифиза, гипоталамуса и гипофиза до яичников и семенников (S. Yasuaki с соавт., 2012). Большинство выполненных исследований подчинено выяснению закономерностей регуляции воспроизводительной функции у человека и животных. Для биологической животноводческой науки самостоятельный интерес представляет выяснение роли D-аминокислот и метаболизирующего их фермента в связи с процессами возбуждения и торможения в центральной нервной системе. Когнитивная функция у сельскохозяйственных животных заслуживает отдельного рассмотрения, поскольку, по нашему мнению, она тесно связана с адаптацией животных к условиям промышленного содержания, формированием типа нервной системы, снижением агрессивности и, в конечном итоге, с познанием и управлением поведенческими реакциями и продуктивностью.

**Ключевые слова:** D-аминокислоты, оксидаза D-аминокислот, пероксисомы, нервная и эндокринная регуляция метаболизма.

Явление оптической изомерии открыто в XIX веке Л. Пастером (Louis Pasteur), обнаружившим левое и правое вращение плоскости поляризованного света в культуральных средах. Пастер связал это со способностью отдельных молекул существовать в виде двух зеркально-антиподных «диссимметрических» пространственных конфигураций и назвал их хиральными (от греч. рука). Такое свойство молекул Пастер определил как фундаментальное и универсальное, чем привлек к стереоизомерии (таутометрии) пристальное внимание. Далеко не все в этой области стало ясным и в настоящее время. Продолжаются дискуссии и выдвигаются гипотезы, которые нуждаются в теоретической и экспериментальной верификации (1). С середины XX века известно, что использование в кормлении лабораторных и сельскохозяйственных животных вместо L-аминокислот небольшого количества их зеркальных энантиомеров приводит к отрицательным послед-

ствиям. Имеются также прогнозы, что хиральные поллютанты могут стать глобальной экологической проблемой (1). Интерес к D-аминокислотам и их оксидазам перерос в проблему междисциплинарного масштаба (1). Большинство работ посвящены изучению их функций в центральном и периферическом отделах нервной системы у человека. Исследования у сельскохозяйственных животных крайне малочисленны и в России не проводились.

Цель настоящего обзора — систематизация всех имеющихся данных о роли D-аминокислот и их оксидаз в обмене веществ у сельскохозяйственных животных в норме и при патологии с описанием их специфических функций в метаболических путях в различных системах.

Особый интерес представляет изучение D-аминокислот и их оксидазы (D-amino-acid oxidase, DAAO) в связи с процессами возбуждения и торможения в центральной нервной системе, адаптивностью к условиям промышленного содержания, формированием типа нервной системы, снижением агрессивности, становлением социального статуса животного и, в конечном итоге, с познанием и управлением поведенческими реакциями сельскохозяйственных животных (2). Здесь следует ожидать появления плодотворных идей и разработку на этой основе способов повышения количества и качества производимой животноводческой продукции. Ученые до сих пор не могут дать однозначный ответ, сколько аминокислот в живой природе могут существовать в форме D-изомеров и сколько оксидаз D-аминокислот имеется в организме. Видимо, все известные нам аминокислоты претерпевают реакции рацемизации, но их скорость сильно различается. Относительно оксидаз ответ также не вполне однозначен. Во всей мировой литературе оксидазу D-аминокислот называют в единственном числе, и она имеет классификационный номер ЕС 1.4.3.3. Однако по официальной номенклатуре есть еще один фермент — оксидаза D-аспарагиновой кислоты (ЕС 1.4.3.1). Он упоминается в значительно меньшем числе источников (3). Первый фермент обладает широкой субстратной специфичностью с соответствующей иминокислотой, аммиаком и перекисью водорода как конечными продуктами катализируемых реакций. Продукты реакции второго фермента (тоже дезаминирующего) — оксалоацетат, аммиак и перекись водорода. В какой степени оксидаза D-аминокислот количественно способна проявлять активность по D-аспартату и наоборот, еще надлежит уточнить. В литературе не удалось обнаружить строгого физиолого-биохимического обоснования целесообразности функционирования в организме двух этих ферментов. Возможно, она обусловлена исключительной ролью D-аспартата в N-метил-D-аспарагиновом рецепторе, особым значением оксалоацетата в обмене веществ и функциями D-аспарагиновой кислоты в эндокринной системе. Мы будем называть оксидазу D-аминокислот в единственном числе, как общепринято в мировой литературе.

D-аминокислоты играют ключевую роль в регуляции ряда процессов в клетке. DAAO — один из главных ферментов, ответственных за поддержание требуемого количества D-аминокислот в организме. Механизм этой регуляции разнонаправлен и мультипараметричен. Один и тот же фермент одновременно влияет на содержание всех D-аминокислот и D-производных биологически активных аминов, которые могут инициировать различные метаболические пути и физиологические эффекты (4). Как правило, с возрастом животных и при патологических состояниях различной этиологии отмечается снижение концентрации D-серина в крови и цереброспинальной жидкости, но всегда с одновременным уменьшением количества D-аминокислот и повышением активности и экспрессии оксидазы D-аминокислот (5).

Долгое время считалось, что D-аминокислоты не синтезируются в организме млекопитающих, а их присутствие объясняли гидролизом, осуществляемым микроорганизмами-симбионтами. Однако с помощью современных аналитических методов у млекопитающих обнаружены значительные количества D-аминокислот. Наиболее представлены D-серин и D-аспартат. D-серин, который синтезирует серин-рацемазы и деградирует DAAO, обнаружен в мозге и рассматривается как один из двух ведущих нейромедиаторов. D-аспартат, синтезируемый аспартат-рацемазой и деградируемый оксидазой D-аспартата, в значительных количествах присутствует в нейроэндокринных структурах и органах эндокринной системы. Он известен как значимый регулятор синтеза и секреции гормонов и сперматогенеза. D-серин и D-аспартат присоединяются к глициновому сайту соответствующего субтипа N-метил-D-аспарагинового рецептора (N-methyl-D-aspartate, NMDA) и функционируют как два важнейших агониста и коагониста для ускорения передачи информации между глией и нейронами (6).

Оксидаза D-аминокислот — это флавоэнзим, содержащий в активном центре флавинадениндинуклеотид (ФАД). Она катализирует окислительное дезаминирование преимущественно основных и нейтральных D-аминокислот до соответствующих иминокислот, ответственных за оптическую инверсию. В результате реакции также образуется перекись водорода, восстанавливается ФАД, а иминокислота неферментативно распадается до  $\alpha$ -кетокислоты и иона аммония. В активном центре имеются SH-группы и атом железа. Оптимум pH для обеих оксидаз — от 8,5 до 11, среда должна быть насыщена кислородом. Оксидаза D-аминокислот обнаружена во всех эукариотических клетках, кроме клеток высших растений. У млекопитающих она локализована в тканях мозга, почках, печени, легких и др. Примечательно, что ее концентрация в печени и почках свиней особенно высока (7). Множественные функции фермента указывают на причастность изменений его активности в клетке к самым разнообразным регуляторным процессам в организме (8, 9). Характерная особенность DAAO — почти абсолютная специфичность к D-изомерам, при этом специфичность в отношении D-аминокислот неодинакова, а с L-формами каталитическая активность практически не выявляется (10).

DAAO выполняет разнообразные физиологические функции — от анаболической в дрожжевых клетках, где позволяет им расти только на D-аминокислотах как источниках углерода, азота и энергии, до регуляторной в мозге высших животных, где DAAO контролирует количество нейромодулятора D-серина (11). Фермент, окисляющий D-аминокислоты, был открыт Кребсом (Н.А. Krebs) в 1935 году и с этого времени представляет объект многочисленных исследований (11). На нем наиболее полно описывается общая модель функционирования дегидрогеназно-оксидазного класса флавопротеинов. Структурные и функциональные исследования предполагают, что специфическая физиологическая функция осуществляется через использование различных структурных элементов, которые контролируют доступ к активному центру и субстрату или продуктам обмена (12). Кинетические характеристики DAAO свиньи показывают, что фермент связывает ФАД быстрее, чем оксидаза L-аминокислот, и существует как стабильный гомодимер даже в апопротеиновой форме. Химические свойства оксидазы определяются спецификой гидрофобных связей коротких фрагментов аминокислотных последовательностей. Эти фрагменты ассоциированы с поверхностью флавинового кольца, образуя уникальную стабильную конформацию со специфическими кинетическими характеристиками (13).

Интерес ученых к DAAO начал активно расти с середины 1990-х го-

дов. Во-первых, это было связано с многочисленными экспериментальными данными, свидетельствовавшими об исключительно важной роли D-аминокислот в жизнедеятельности организма. Во-вторых, методы генетической инженерии позволили создать рекомбинантные штаммы — продуценты оксидазы D-аминокислот и получить фермент в количествах, достаточных для изучения. В-третьих, секвенирование целых геномов прокариот и эукариот дало предпосылки для поиска и клонирования генов новых ДААО. В-четвертых, методы энзимологической инженерии позволяют конструировать фермент, способный к легкой и прочной фиксации на нерастворимых носителях, для использования в качестве сорбентов, обеззараживателей, ферментных электродов и т.д. (14).

Ряд метаболических состояний связан с повышенной экспрессией ДААО и ее специфического активатора — протеина G72, открытого в 2002 году. До сих пор остается дискуссионным вопрос о том, посредством каких механизмов протеин G72 выполняет регуляторную роль в активности оксидазы D-аминокислот. Обнаружено, что аминокислотные остатки в позициях 123-153 и 138-153 в длинной изоформе G72 связываются с ДААО и повышают ее активность соответственно на 22 и 32 %. Более детальные исследования (15) показали, что эти участки G72 взаимодействуют со специальными петлями в молекуле ДААО и создают некий туннель, который облегчает субстрату и кофактору проникновение в активный центр фермента. Рассматривается также молекулярный механизм, включающий взаимодействие между C-терминальным фрагментом G72 и ДААО, который может влиять на свойства рецептора N-метил-D-аспартата, потенцирующего нейротрансмиссию. Подобный канал, или туннель, описан и для перекиси водорода и кислорода (15). Протеин G72, активируя ДААО, содействует усилению катализа окислительного дезаминирования D-3,4-дигидрокси-фенилаланина и D-серина. D-3,4-дигидроксифенилаланин конвертируется в L-3,4-дигидроксифенилаланин — предшественник дофамина, в то время как D-серин участвует в глутаматэргической системе. Эти результаты показывают, что вариации гена оксидазы D-аминокислот влияют на оборот дофамина у взрослых здоровых особей. Возможно, нарушение обмена дофамина служит механизмом, ответственным за связь между генетическими вариациями оксидазы D-аминокислот и поведенческим фенотипом.

Со времен открытия D-серина у млекопитающих он стал самой изучаемой «ненатуральной аминокислотой». Эта транмиттероподобная аминокислота, в значительном количестве содержащаяся в мозге, играет главную роль в центральной нервной системе у высших животных посредством моделирования активности субтипа глутаминового рецептора N-метил-D-аспартата. Для нормального развития и функционирования мозга требуется физиологически оптимальное содержание D-серина. Любые изменения в количестве этого нейромодулятора могут стать причиной патологий (16). Среди работ, опубликованных в последние несколько лет по D-аминокислотам, около половины посвящено изучению роли D-серина в качестве полноценного нейротрансмиттера — нейромодулятора, аллостерического агониста глицин-связывающего сайта на глутаминовом рецепторе N-метил-D-аспартата, который играет важную роль во многих физиологических и патофизиологических процессах (17).

Снижение содержания D-серина опасно, поскольку он с высоким сродством взаимодействует с глицин-связывающим сайтом NMDA-рецепторов (18). Уменьшение количества D-серина снижает функциональную активность NMDA-рецепторов, что рассматривается как одна из основных причин развития отклонений в работе центрального и периферического

отделов нервной системы. В последнее время именно эта гипотеза принята за основную рабочую, так как длительная потенциация синаптической передачи между двумя нейронами может сохранять продолжительную активизацию функции синапсов. Воздействуя на синаптический проводящий путь, D-серин участвует в механизмах, обеспечивающих синаптическую пластичность, позволяя нервной системе адаптироваться к изменяющимся условиям внешней среды (19).

В мозге у мутантных мышей и крыс с энзимопатией по DAAO количество D-аминокислот, в особенности D-серина, существенно возрастает. DAAO катаболизирует D-серин и таким образом модулирует нейротрансмиссию. Мутантные мыши ведут себя, как животные с измененной активностью субтипа глутаматного рецептора N-метил-D-аспартата вследствие возросшего содержания D-серина. D-серин и DAAO играют важную роль в церебральной активности и синаптической мобильности. Они вовлечены в различные физиологические и патологические реакции центральной нервной системы (20). D-серин выполняет функции NMDA и известен как усиливающий негативное влияние и когнитивные симптомы при нервных расстройствах в отличие от слабого эффекта применения стандартных D-2 антагонистов. Ингибирование DAAO представляет существенный интерес как эффективный способ увеличения количества D-серина в мозге. За последние несколько лет открыто большое число ингибиторов DAAO. Некоторые из них демонстрируют активность, значительно превышающую такую у общепризнанных ингибиторов оксидазы D-аминокислот. У многих недавно описанных ингибиторов DAAO активность проявляется в повышении количества D-серина, они эффективны на лабораторных животных при моделировании поведенческих реакций, агрессивности и адаптивности (21).

Мыши с частичными энзимопатиями по серин-рацемазе и D-аспартатоксидазе способны к размножению и развитию. У них происходят мутации по гену оксидазы D-аминокислот, который присутствует у крыс и мышей. Поведенческие реакции у мутантных животных отличаются от реакций у нормальных вследствие повышенной или пониженной активности рецептора NMDA (22).

Оксидаза D-аминокислот катализирует окислительное дезаминирование D-аминокислот, включая D-серин — агонист глицинового модуляторного сайта в рецепторе для N-метил-D-аспартата. Показано, что в клиренсе D-серина DAAO играет важнейшую роль в системной циркуляции крови. Следовательно, ингибиторы DAAO с более длительным периодом биологической полужизни могут поддерживать в крови более высокую концентрацию D-серина на протяжении длительного времени, что может иметь существенный эффект в терапии системной гипертензии (23).

Согласно результатам недавних исследований, D-3,4-дигидрокси-фенилаланин (D-ДФФА) служит для лабораторных животных лучшим субстратом DAAO по сравнению с D-серином (24). Величина каталитической эффективности (отношение значений каталитической константы, или числа оборотов фермента, и константы Михаэлиса  $k_{cat}/K_M$ ) с ДГФА была в 14 раз выше, чем с D-серином. То есть DAAO обеспечивает эффективный альтернативный метаболический путь превращения D-ДФФА в дофамин, что может представлять интерес при управлении поведенческими реакциями и снижении агрессивности животных.

G.H. Fisher (25), изучая физиологическую роль высоких концентраций D-аланина во внутриклеточном пространстве тканей и органов, предположил, что эта аминокислота участвует в регуляции внутриклеточного осмотического давления.

По концентрации в клетках высших животных D-пролин и D-лейцин находятся на четвертом месте после D-серина, D-аспарагина и D-аланина. В настоящее время идет дискуссия о физиологической роли D-пролина. В организме осуществляется односторонняя оптическая инверсия аминокислот и аналогов D-аминокислот. Экзогенный NG-нитро-D-аргинин, эндогенные D-фенилаланин и D-метионин инвертируются значительно быстрее остальных D-аминокислот. В клетках долгоживущих тканей (дентин, зубная эмаль, хрусталик и др.) наблюдается четкая корреляция между возрастом животного и концентрацией D-оксипролина и D-аспартата (25). Активно обсуждаются данные о нейро-, гепато- и нефротоксичности D-пролина для крыс (26). Изучение содержания D-пролина в различных тканях у обычных и мутантных (отсутствие гена, ответственного за синтез DAAO) мышей показало, что у последних D-пролин в значительных количествах накапливается в почках, а его избыток выводится из организма естественным путем (26).

D-аспартатоксидаза обнаруживается в пероксисомах печени, почек и многих других тканях и органах у человека, крупного рогатого скота, свиней, овец. Вместе с каталазой и DAAO она служит пероксисомальным маркерным ферментом.

D-аспарагиновая кислота признается одним из важнейших регуляторов синтеза и секреции стероидных гормонов и релизинг-факторов белковых гормонов (27). Высокое содержание D-аспарагиновой аминокислоты наблюдается в железах внутренней секреции, в нервной и эндокринной тканях. Для этой аминокислоты наивысшая концентрация отмечается в эмбриональный период. С возрастом она постепенно снижается в нервной ткани, но увеличивается в эндокринных железах, особенно в эпифизе, гипофизе, надпочечниках и семенниках. В эпифизе D-аспартат снижает секрецию мелатонина, в семенниках — стимулирует клетки Лейдига, происходящий в них биосинтез и секрецию тестостерона через активацию стероидогенеза посредством экспрессии специфического регуляторного протеина. Это открытие показывает, что D-аспарагиновая кислота представляет собой новый тип мессенджера в организме млекопитающих (28).

Регуляция образования и секреции эпифизарного гормона мелатонина — специфическая физиологическая функция D-аспартата. Обсуждаются различные механизмы ответа на норадреналиновую стимуляцию пинеалоцитов, которые были предварительно обработаны D-аспарагином (29). Значительные количества D-аспартата обнаруживаются и в молочной железе. L-аспарагиновая кислота демонстрирует обратно пропорциональное дозозависимое влияние на секрецию пролактина. Тестостерон, кортизон, тиреоидные гормоны увеличивают активность оксидаз. В почках крыс, содержащихся на диете, ограниченной по Na, оксидазная активность также увеличивается. Гиполипидимические препараты уменьшают образование пероксисом в печени и заметнее, чем можно было ожидать, снижают активность DAAO. В нейроэндокринной системе D-аспартат обнаруживается в убывающих концентрациях в ряду NMDA > аденогипофиз > гипоталамус > эпифиз. При интраперитонеальных инъекциях аминокислоты наибольшая аккумуляция наблюдается именно в этих железах и сопровождается дозозависимым ростом концентрации пролактина и соматотропина (30-32).

Обнаружена зависимость гормональной активности и наступления половой зрелости от концентрации D-аспартата в гипофизе и тестикулах. Иммуноцитохимические исследования показали, что этот энантиомер локализуется в клетках Лейдига и Сертолли, и подтвердили его важную роль в стероидогенезе (33). Авторы продемонстрировали регуляторную роль D-

аспарагиновой кислоты у различных животных в биосинтезе и секреции тестостерона и лютеинизирующего гормона, но не эстрадиола. Детально описывается механизм воздействия инъекций D-аспартата на тестикулярные андрогенные рецепторные белки, содержание которых при этом существенно возрастало, в то время как количество эстрогеновых  $\alpha$ -рецепторов и рецепторов P-450 ароматазы снижалось (33).

При изучении молекулярных механизмов эволюционного перехода от асексуальной к сексуальной репродукции была высказана гипотеза, согласно которой DAAO ингибирует образование незрелых яичников посредством деградации D-аминокислот (34). Вследствие сексуальной индукции экспрессия оксидазы в яичниках возрастает. Отсутствие оксидазы замедляет созревание всех репродуктивных органов, а не только яичников. Это обстоятельство позволило допустить, что оксидаза усиливает созревание яичников, от которых зависит полная сексуальная индукция. Авторы также предположили, что оксидаза, которая образуется в соматических клетках, предотвращает снижение сексуальной индукции в асексуальном статусе. После сексуальной индукции женские половые клетки специфически продуцируют DAAO для индукции полного созревания.

С помощью комбинации точных и чувствительных методов флуориметрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии не только подтверждено наличие D-аспартата в нервной ткани и эндокринных железах, но также показана индукция секреции гормона роста и лютеинизирующего гормона в аденогипофизе. Интересно, что индукцию лютеинизирующего гормона отмечали только в случае совместной инкубации аденогипофиза с гипоталамусом. Это могло происходить вследствие индукции D-аспарагиновой кислотой гипоталамического релизинг-фактора гонадотропина, ответственного за секрецию лютеинизирующего гормона гипофиза. Причем в сравнении с NMDA D-аспартат высвобождал гормон в концентрации в 100 раз меньшей (34).

Еще в 1939 году было показано, что опухолевые белки содержат значительные количества D-аминокислот, особенно D-глутаминовой кислоты, D-валина, D-лейцина и D-лизина. Несколько позже было обнаружено исключительно высоко содержание D-серина. В предраковых клетках и злокачественных опухолях активность DAAO крайне низкая, что наводит на мысль об их важной роли в метаболическом контроле, включая возможное участие в управлении ростом клеток. Предполагалось, что инициация и автономный характер неукротимого роста опухолей зависит от образования и поддержания концентрации D-аминокислот в клеточных протеинах. Этот постулат остается противоречивым на протяжении многих лет. Были опубликованы статьи как подтверждающие, так и опровергающие такую гипотезу. Дискуссия разгорелась между учеными из Нидерландов, Англии и Германии. Однако через много лет с развитием аналитических приемов детекции энантиомеров аминокислот появились более убедительные доказательства, что D-аминокислоты не служат общим индикатором для опухолей и, видимо, не ответственны за процессы малигнизации (во всяком случае, если ответственны, то не во всех тканях) (35). Известно, что опухолевые клетки очень быстро растут, поэтому многие полагают, что у L-аминокислот нет достаточного времени рацемизироваться в D-изомеры (это довольно медленный процесс). Однако применение теста на DAAO для диагностики рака продолжает оставаться одной из интересных и перспективных областей, поскольку в опытах на лабораторных животных показано почти полное отсутствие ее активности в раковых клетках. Некоторые D-аминокислоты могут в незначительных количествах поступать с пищей, но неизвестно, какие

ферментные системы способны включать D-аминокислоты в опухолевые ткани. Тем не менее, значительные количества D-аминокислот находятся в опухолевых белках. Солидная аргументация их появления здесь отсутствует, но изучение этого феномена, безусловно, важно для понимания механизмов аутогенеза и поддержания развития опухолей (36).

Простагландин-D-синтетаза представляет собой бифункциональный протеин, действующий как фермент, продуцирующий PGD<sub>2</sub> (prostaglandin D<sub>2</sub>, простагландин D<sub>2</sub>), и как транспортер липидов. Этот фермент — член липокалинового суперсемейства протеинов, который может связываться с большим количеством липофильных молекул. Экспрессия фермента увеличивается в нейрональных клетках, обработанных H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Содержание простагландин-продуцирующего фермента тесно взаимосвязано с апоптозом, индуцированным перекисью водорода. Этот фермент защищает нейрональные клетки от смерти, вызванной перекисью водорода. Тест на жизнеспособность клеток показывает дозозависимое действие фермента (37). Кроме того, титрация свободных тиолов в обработанной перекисью водорода простагландинсинтетазе подтверждает, что при воздействии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на клетки тиол окисляется до сульффиновой кислоты. Аффинность окисленной формы фермента для липофильных молекул сравнима с таковой у необработанной формы. Эти результаты показывают, что фермент защищает нейрональные клетки от смерти посредством нейтрализации реактивных форм кислорода без снижения лиганд-связывающей функции. Это свойство простагландинсинтетазы может быть полезно для супрессии индуцированных стрессом нейродегенеративных оксидативных патологий (38, 39).

Поскольку оксидаза D-аминокислот генерирует H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и использует в качестве субстрата D-аминокислоты, предполагалось, что она может защищать от бактериальных инфекций. Действительно, оксидаза D-аминокислот угнетает рост *Staphylococcus aureus* in vitro в дозозависимой концентрации. Добавление в инкубационную среду каталазы предотвращало бактериостатический эффект. Однако наличие в этой же системе миелопероксидазы усиливало бактерицидность. Это парадоксальное наблюдение нуждается в расшифровке, поскольку оба фермента способны разлагать H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, но физиологический эффект их совместного действия диаметрально противоположный. Тем не менее, достоверно известно, что повышение содержания D-серина и снижение активности DAAO эффективны при лечении различных заболеваний, включая психиатрические и онкологические (40-45).

Таким образом, нами систематизирован и проанализирован широкий перечень функций D-аминокислот и их оксидазы с акцентом на сложные конкурентные физиолого-биохимические взаимоотношения в разных системах (от эпифиза, гипоталамуса и гипофиза до яичников и семенников). Обсуждается сигнальная, коммуникативная и регуляторная роль пероксисом в связи присутствием в них D-аминокислот и их оксидазы, участвующих в обеспечении взаимосвязи между нервной, эндокринной и иммунной системами в процессах регуляции обмена веществ в клетке, органе и организме. Судя по публикациям в мировой академической и медицинской литературе, предпочтение исследователей отдается выяснению роли D-аминокислот и их оксидазы в центральном и периферическом отделах нервной системы человека. По нашему мнению, следует инициировать интерес к этой проблематике и в биологической животноводческой науке. Уверенность в перспективности таких работ основывается на экспериментальном материале по определению кинетических характеристик DAAO, указывающих на способность обеспечивать эффективный альтернативный метаболический путь превращения D-дигидрофенилаланина в



дофамин. Это может быть полезно для поиска механизмов управления поведенческими реакциями и снижения агрессивности животных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Твердислов В.А., Яковенко Л.В., Жаворонков А.А. Хиральность как проблема биохимической физики. Российский химический журнал, 2007, 51(1): 13-22. Режим доступа: <http://www.chem.msu.ru/rus/jvho/2007-1/13.pdf>. Без даты.
2. Червяков А.В. Нарушение молекулярной асимметрии аминокислот (D/L-энантиомеры) при нормальном старении и нейродегенеративных заболеваниях. Асимметрия, 2010, 4(2): 77-112. Режим доступа: [http://j-asymmetry.com/2011/12/chervyakov\\_2\\_2010](http://j-asymmetry.com/2011/12/chervyakov_2_2010). Без даты.
3. Zhao W.J., Yin M. Advances in the study of D-amino acid oxidase in the central nervous system. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan [Progress in Physiology], 2008, 39(1): 64-66 (PMID: 18357693).
4. Saitoh Y., Katane M., Kawata T., Maeda K., Sekine M., Furuchi T., Kobuna H., Sakamoto T., Inoue T., Arai H., Nakagawa Y., Homma H. Spatiotemporal localization of D-amino acid oxidase and D-aspartate oxidases during development in *Caenorhabditis elegans*. Mol. Cell. Biol., 2012, 32(10): 1967-1983 (doi: 10.1128/MCB.06513-11).
5. Yamataka M., Miyoshi Y., Ohide H., Hamase K., Konno R. D-Amino acids in the brain and mutant rodents lacking D-amino-acid oxidase activity. Amino Acids, 2012, 43(5): 1811-1821 (doi: 10.1007/s00726-012-1384-x).
6. Sikka P., Walker R., Cockayne R., Wood M.J., Harrison P.J., Burnet P.W. D-Serine metabolism in C6 glioma cells: Involvement of alanine-serine-cysteine transporter (ASCT2) and serine racemase (SRR) but not D-amino acid oxidase (DAO). J. Neurosci. Res., 2010, 88(8): 1829-1840 (doi: 10.1002/jnr.22332).
7. Ghisla S., Pollegioni L., Molla G. Revisitation of the  $\beta$ Cl-elimination reaction of D-amino acid oxidase. New interpretation of the reaction that sparked flavoprotein dehydrogenation mechanisms. J. Biol. Chem., 2011, 286(47): 40987-40998 (doi: 10.1074/jbc.M111.266536).
8. Kawazoe T., Park H.K., Iwana S., Tsuge H., Fukui K. Human D-amino acid oxidase: an update and review. Chem. Rec., 2007, 7(5): 305-315 (doi: 10.1002/tcr.20129).
9. Rais R., Thomas A.G., Wozniak K., Wu Y., Jaaro-Peled H., Sawa A., Strick C.A., Engle S.J., Brandon N.J., Rojas C., Slusher B.S., Tsukamoto T. Pharmacokinetics of oral D-serine in D-amino acid oxidase knockout mice. Drug. Metab. Dispos., 2012, 40(11): 2067-2073 (doi: 10.1124/dmd.112.046482).
10. Ohide H., Miyoshi Y., Maruyama R., Hamase K., Konno R. D-Amino acid metabolism in mammals: biosynthesis, degradation and analytical aspects of the metabolic study. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 2011, 879(29): 3162-3168 (doi: 10.1016/j.jchromb.2011.06.028).
11. Gustafson E.C., Morgans C.W., Tekmen M., Sullivan S.J., Esguerra M., Konno R., Miller R.F. Retinal NMDA receptor function and expression are altered in a mouse lacking D-amino acid oxidase. J. Neurophysiol., 2013, 110(12): 2718-2726 (doi: 10.1152/jn.00310.2013).
12. Konno R., Yasumura Y. Physiological role of D-amino-acid oxidase. Protein, nucleic acid, enzyme, 1991, 36(1): 54-62 (PMID: 1672466).
13. Krebs E.G. Protein kinases. Current Topics in Cellular Regulation, 1972, 5: 99-133 (doi: 10.1016/B978-0-12-152805-8.50010-1).
14. Nishina Y. Structure and reaction mechanism of D-amino acid oxidase. The Journal of Japanese Biochemical Society, 2008, 80(6): 569-578 (PMID: 18634432).
15. Pollegioni L., Ghisla S., Pilone M.S. Studies on the active centre of *Rhodotorula gracilis* D-amino acid oxidase and comparison with pig kidney enzyme. Biochem. J., 1992, 286(2): 389-394 (doi: 10.1042/bj2860389).
16. Khoronenkova S.V., Tishkov V.I. D-amino acid oxidase: physiological role and applications. Biochemistry, 2008, 73(13): 1511-1518 (doi: 10.1134/S0006297908130105).
17. Santillo A., Falvo S., Chieffi P., Burrone L., Chieffi Baccari G., Longobardi S., Di Fiore M.M. D-aspartate affects NMDA receptor-extracellular signal-regulated kinase pathway and upregulates androgen receptor expression in the rat testis. Theriogenology, 2014, 81(5): 744-751 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.12.009).
18. Haruta N., Iizuka H., Ishii K., Yoshihara S., Ichiba H., Fukushima T. Alteration in the plasma concentration of a DAAO inhibitor, 3-methylpyrazole-5-carboxylic acid, in the ketamine-treated rats and the influence on the pharmacokinetics of plasma D-tryptophan. Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci., 2011, 87(10): 641-648 (doi: 10.2183/pjab.87.641).
19. Lu J.M., Gong N., Wang Y.C., Wang Y.X. D-Amino acid oxidase-mediated increase in spinal hydrogen peroxide is mainly responsible for formalin-induced tonic pain. Br. J. Pharmacol., 2012, 165(6): 1941-1955 (doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01680.x).
20. Wang Y.-X., Gong N., Xin Y.-F., Hao B., Zhou X.-J., Pang C.C. Biological implications of oxidation and unidirectional chiral inversion of D-amino acids. Curr. Drug. Metab.,

- 2012, 13(3): 321-331 (doi: 10.2174/138920012799320392).
21. Labrie V., Wang W., Barger S.W., Baker G.B., Roder J.C. Genetic loss of D-amino acid oxidase activity reverses schizophrenia-like phenotypes in mice. *Genes. Brain Behav.*, 2010, 9(1): 11-25 (doi: 10.1111/j.1601-183X.2009.00529.x).
  22. Pollegioni L., Molla G., Sacchi S., Rosini E., Verga R., Pilone M.S. Properties and applications of microbial D-amino acid oxidases: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, 78(1): 1-16 (doi: 10.1007/s00253-007-1282-4).
  23. Sasabe J., Miyoshi Y., Suzuki M., Mita M., Konno R., Matsuoka M., Hamase K., Aiso S. D-Amino acid oxidase controls motoneuron degeneration through D-serine. *PNAS USA*, 2012, 109(2): 627-632 (doi: 10.1073/pnas.1114639109).
  24. Sasabe J., Suzuki M., Imanishi N., Aiso S. Activity of D-amino acid oxidase is widespread in the human central nervous system. *Front Synaptic Neurosci.*, 2014, 3(6): 14-19 (doi: 10.3389/fnsyn.2014.00014).
  25. Sakurai T., Kashimura O., Kano Y., Ohno H., Ji L.L., Izawa T., Best T.M. Role of nitric oxide in muscle regeneration following eccentric muscle contractions in rat skeletal muscle. *J. Physiol. Sci.*, 2013, 63(4): 263-270 (doi: 10.1007/s12576-013-0262-y).
  26. Fisher G.H. Appearance of D-amino acids during aging: D-amino acids in tumor proteins. *FASEB J.*, 1998, 85: 109-118 (PMID: 9949871).
  27. Poinar H.N., Höss M., Bada J.L., Pääbo S. Amino acid racemization and the preservation of ancient DNA. *Science*, 1996, 272(5263): 864-866 (doi: 10.1126/science.272.5263.864).
  28. Pollegioni L., Piubelli L., Sacchi S., Pilone M.S., Molla G. Physiological functions of D-amino acid oxidases: from yeast to humans. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2007, 64(11): 1373-1394 (doi: 10.1007/s00018-007-6558-4).
  29. Furuchi T., Homma H. Free D-aspartate in mammals. *Biol. Pharm. Bull.*, 2005, 28(9): 1566-1570 (doi: 10.1248/bpb.28.1566).
  30. Takigawa Y., Homma H., Lee J.A., Fukushima T., Santa T., Iwatsubo T., Imai K. D-aspartate uptake into cultured rat pinealocytes and the concomitant effect on L-aspartate levels and melatonin secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, 248(3): 641-647 (doi: 10.1006/bbrc.1998.8971).
  31. D'Aniello A., Di Cosmo A., Di Cristo C., Annunziato L., Petrucelli L., Fisher G. Involvement of D-aspartic acid in the synthesis of testosterone in rat testes. *Life Sci.*, 1996, 59(2): 97-104 (doi: 10.1016/0024-3205(96)00266-4).
  32. D'Aniello A., Di Fiore M.M., Fisher G.H., Milone A., Seleni A., D'Aniello S., Perna A.F., Ingresso D. Occurrence of D-aspartic acid and N-methyl-D-aspartic acid in rat neuroendocrine tissues and their role in the modulation of luteinizing hormone and growth hormone release. *FASEB J.*, 2000, 14(5): 699-714 (PMID: 10744627).
  33. D'Aniello G., Tolino A., D'Aniello A., Errico F., Fisher G.H., Di Fiore M.M. The role of D-aspartic acid and N-methyl-D-aspartic acid in the regulation of prolactin release. *Endocrinology*, 2000, 141(10): 3862-3870 (doi: 10.1210/endo.141.10.7706).
  34. Topo E., Soricelli A., D'Aniello A., Ronsini S., D'Aniello G. The role and molecular mechanism of D-aspartic acid in the release and synthesis of LH and testosterone in humans and rats. *Endocrinology*, 2009, 27(7): 120-129 (doi: 10.1186/1477-7827-7-120).
  35. Maezawa T., Tanaka H., Nakagawa H., Ono M., Aoki M., Matsumoto M., Ishida T., Horiike K., Kobayashi K. D-amino acid oxidase is involved in ovarian development during sexual induction. *Mech. Dev.*, 2014, 132: 69-78 (doi: 10.1016/j.mod.2013.12.003).
  36. Pilone M.S. D-Amino acid oxidase: new findings. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2000, 57(12): 1732-1747 (doi: 10.1007/PL00000655).
  37. Haskew-Layton R.E., Payappilly J.B., Smirnova N.A., Ma T.C., Chan K.K., Murphy T.H., Guo H., Langley B., Sultana R., Butterfield D.A., Santagata S., Alldred M.J., Gazaryan I.G., Bell G.W., Ginsberg S.D., Ratan R.R. Controlled enzymatic production of astrocytic hydrogen peroxide protects neurons from oxidative stress via an Nrf2-independent pathway. *PNAS. USA*, 2010, 107(40): 17385-17390 (doi: 10.1073/pnas.1003996107).
  38. Saam J., Rosini E., Molla G., Schulten K., Pollegioni L., Ghisla S. O<sub>2</sub> Reactivity of flavoproteins dynamic access of dioxygen to the active site and role of H<sup>+</sup> relay system in D-amino acid oxidase. *J. Biol. Chem.*, 2010, 285(32): 24439-24446 (doi: 10.1074/jbc.M110.131193).
  39. Fang J., Seki T., Maeda H. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2009, 61(4): 290-302 (doi: 10.1016/j.addr.2009.02.005).
  40. Nagata Y., Konno R., Yasumura Y., Akino T. Involvement of D-amino acid oxidase in elimination of free D-amino acids in mice. *Biochem. J.*, 1989, 257(1): 291-292 (doi: 10.1042/bj2570291).
  41. Fukuhara A., Yamada M., Fujimori K., Miyamoto Y., Kusumoto T., Nakajima H., Inui T. Lipocalin-type prostaglandin D synthase protects against oxidative stress-induced neuronal cell death. *Biochem. J.*, 2012, 443(1): 75-84 (doi: 10.1042/BJ20111889).
  42. Hideaki N., Jun F., Hiroshi M. Protective role of D-amino acid oxidase against *Staphylococcus aureus* infection. *Infect. Immun.*, 2012, 80(4): 1546-1553 (doi: 10.1128/IAI.06214-11).

43. Sacchi S., Caldinelli L., Cappelletti P., Pollegioni L., Molla G. Structure-function relationships in human D-amino acid oxidase. *Amino Acids*, 2012, 43(5): 1833-1850 (doi: 10.1007/s00726-012-1345-4).
44. Pollegioni L., Molla G., Sacchi S., Rosini E., Verga R., Pilone M.S. Properties and applications of microbial D-amino acid oxidases: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, 78(1): 1-16 (doi: 10.1007/s00253-007-1282-4).
45. Pollegioni L., Piubelli L., Sacchi S., Pilone M.S., Molla G. Physiological functions of D-amino acid oxidases: from yeast to humans. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2007, 64(11): 1373-1394 (doi: 10.1007/s00018-007-6558-4).

*ФГБНУ Всероссийский НИИ физиологии, биохимии  
и питания животных,*  
249013 Россия, Калужская обл., г. Боровск, пос. Институт,  
e-mail: bifip@kaluga.ru, serna-sun@mail.ru

*Поступила в редакцию  
3 мая 2016 года*

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2017, V. 52, № 4, pp. 635-645

## D-AMINO ACIDS AND THEIR OXIDASE IN FARM ANIMALS — THE ROLE AND OPPORTUNITIES (review)

*V.P. Galochkina, A.V. Agafonova, V.A. Galochkin*

*All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry and Nutrition, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Institut, Borovsk, 249013 Russia, e-mail bifip@kaluga.ru, serna-sun@mail.ru (corresponding author V.A. Galochkin)*

The authors declare no conflict of interests

*Received May 3, 2016*

doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.635eng

### Abstract

In the article, the basic physiological and biochemical functions and the importance of D-amino acids and D-amino acid oxidase in mammals are described. Serious attention is paid to metabolic role of D-amino acid oxidase in health and disease. D-amino acids and D-amino acid metabolizing enzyme has been discovered by Krebs 1935 (H. Krebs, 1972). Nowadays, most attention is given to the signal, communication and regulatory role of peroxisomes in metabolism. The peroxisomes are considered as candidate agents able to provide a relationship between the nervous and endocrine systems and participate in metabolism regulation in cells, organs and the body. Significant amounts of D-amino acids, the L-amino acids stereoisomers, are found in the peroxisomes of various organs and tissues: in the nervous system (J. Sasabe et al., 2014.), endocrine glands (A. D'Aniello et al., 2000), liver, kidney, breast, etc. (S.V. Khoronenkova, V.I. Tishkov, 2008). These active molecules provide communications in the neuronal network via the synapses of nerve endings (C.W. Morgans et al., 2013) and are involved in cell aging and apoptosis (A.V. Worms, 2010), biosynthesis and secretion of hormones, blood pressure regulation, maintenance of cell osmotic pressure (Y. Nishina, 2008), anti-inflammatory reactions and anti-carcinogenesis (G.H. Fisher, 1998). D-amino acid oxidase affects the activity of body as a whole in very diverse ways due to simultaneous engagement in diametrically opposite multi-parametric processes, such as regulation of cell level of D-amino acids and amino acid D-amines; the activity of central and peripheral nervous system; the maintenance of cell ecology; biosynthesis and secretion of epiphyseal melatonin (H.K. Park et al., 2007), hypothalamic releasing factors, pituitary, thyroid and steroid hormones (A. Santillo et al., 2014); defense against xenobiotics, microorganisms, viruses, stresses, and malignant tumors (R. Rana et al., 2012). Special attention the authors of this paper pay to the role of D-amino acids and D-amino acid oxidase in farm animals. World publications are mostly devoted to physical and chemical properties and the involvement of these agents in a number of neurodegenerative diseases and human clinical pathology of the central and peripheral parts of brain. As to farm animals, the data are almost completely absent. Recently, a growing body of in-deep examinations appear of the impact of D-amino acid oxidase and D-amino acids on the entire hierarchy of the endocrine system from the pineal gland, the hypothalamus and the pituitary gland to the ovaries and testes (S. Yasuaki et al., 2012). The studies are mostly focused on the regulation mechanisms of reproductive function in humans and animals. Elucidation of the involvement of D-amino acids and D-amino acid metabolizing enzyme in excitation and inhibition processes in the central nervous system is of a particular interest for farm animal biology. Cognitive function in farm animals is of a separate interest as it is tightly associated with animal adaptability to commercial production, formation of the nervous system type and a reduced aggressiveness. Eventually, these will result in control of farm animal behavior and performance.

Keywords: D-amino acids, D-amino acid oxidase, peroxisomes, nervous and endocrine regulation of metabolism.