© Шкурупій Д.А.

УДК:616-053.2-008.83

МЕТАБОЛІТИ ГЛІКОЛІЗУ І АКТИВНІСТЬ СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З СИНДРОМОМ ПОЛІОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Шкурупій Д.А.
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Одним из основных участников процесса клеточного энергообеспечения является пируват при метаболизме которого образуется 38 молекул аденозинтрифосфата. Шестая реакция этого метаболического пути идет в присутствии сукцинатдегидрогеназы. В условиях кислородного дефицита пируват может превращаться в лактат с образованием лишь 2 молекул аденозинтрифосфата. Новорожденные имеют высокий уровень энергопотребности и поэтому наиболее чувствительны к развитию энергодефицита при критических состояниях. С целью установления звеньев патогенеза синдрома полиорганной недостаточности у новорожденных было проведено исследование содержания лактата, пирувата в сыворотке крови и активности сукцинатдегидрогеназы венозной крови новорожденных с последствиями перинатального инфицирования и асфиксии при рождении, из которых 52 человека имели синдром полиорганной недостаточности и 17 не имели его. У новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности было установлено достоверное повышение лактата, пирувата и их соотношения, что демонстрирует наличие клеточного энергодефицита. Также имела место корреляционная связь между активностью сукцинатдегидрогеназы и соотношением лактата и пирувата. Поскольку сукцинатдегидрогеназа является митохондриальным ферментом, предполагается, что у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности клеточный энергодефицит является проявлением митохондриальной патологии.

Ключевые слова: лактат, пируват, сукцинатдегидрогеназа, новорожденные, синдром полиорганной недостаточности.

Вступ

Процес гліколізу є універсальним механізмом енергозабезпечення тваринних організмів. Відомо, що гліколіз можливий двома шляхами: аеробним та анаеробним. Одним з основних учасників процесу є піровиноградна кислота, яка частіше розглядається в аніонній формі під назвою пірувату (П). Цей переважно цитозольний субстрат має здатність до взаємоперетворення з глюкозою і є метаболітом для подальших реакцій аеробного процесу енергоутвореня які перебігають на мітохондріальних мембранах з утворенням 38 молекул аденозинтрифосфату. Одним зі шляхів отримання клітиної енергії є окислювальна реакція перетворення сукцинату до фумарату при наявності каталітичної активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) [2].

Однак, в умовах кисневого дефіциту П може перетворюватись на молочну кислоту, яка по аналогії з попередньою частіше фігурує під терміном «лактат» (Л). В цьому випадку гліколіз іде за енегодефіцитним шляхом з утворенням лише 2 молекул аденозинтрифосфату. В умовах гіпоксії блокується енергозалежна утилізація Л в процесі глюконеогенезу, що зрушує рівновагу між Л і П в бік першого [1].

Критичні стани завжди супроводжуються гіпоксією і тому в глобальному сенсі є клітинним гіпоергозом. Ця проблема є особливо актуальною у новонароджених, які серед всіх вікових груп мають найвищий рівень метаболізму і основного обміну, а отже – і енергопотреби [7, 8].

Оскільки функціонування суми кожних окремо взятих клітин в загальному обсягу клітинної маси обумовлюють функціонування макроорганізму в цілому, то у новонароджених з синдромом поліорганної недостатності (СПОН) є доцільним дослідження метаболітів гліколізу і активності СДГ.

Мета: встановлення ланок патогенезу СПОН у новонароджених шляхом дослідження вмісту Л, П, їх співвідношення та активності СДГ у венозній крові.

Матеріали та методи дослідження

Для досягнення поставленої мети було проведене дослідження вмісту Л, П в сироватці крові, та активність СДГ венозної крові 69 дітей, які перебували на лікуванні в неонатальних стаціонарах міст Полтави і Кременчука. Критеріями включення в групу були наявність у новонароджених наслідків перинатального інфікування чи асфіксії при народженні, критеріями виключення були наявність вроджених аномалій розвитку з впливом на дихальну та гемодинамічну системи та наявність хірургічної патології. Пацієнти були рандомізовані наступним чином: до основної групи були віднесені новонароджені, які мали ознаки СПОН і перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії (n=52), до групи порівняння - новонароджені без таких ознак, які перебували у відділені передчасно народжених і патології новонароджених (n=17). Перед початком обстеження у законних представників всіх пацієнтів були отримані письмові акти інформованої згоди на участь в обстеженні. Під час дослідження були дотримані права пацієнтів відповідно вимог Гельсинської декларації 1975 року з поправками від 2005 року. В даній роботі дослідження на тваринах не проводились.

Лабораторний аналіз показників проводився лабораторним відділом ТОВ «Б.А.Т. – БіоАналітичні технології» (м. Харків). Визначення концентрації Л і П проводили ензимними методами [3], активність СДГ визначали в клітинному лізаті за відновлювальною реакцією [1] з використанням реагентів відповідно до рекомендацій виробника.

Статистичний аналіз проводився методами описової статистики і непараметричних критеріїв, а саме середнього арифметичного (M), помилки репрезентативності (m), медіани (Me) і квартильного розмаху

(50L, 50U), критерію Вілкоксона-Манна-Уітні (U) з розрахунком суми рангів Σr, коефіцієнту кореляції (R) Спірмена. За мінімальний рівень безпомилкового прогнозу вважали P=0,95 і, відповідно, рівнем імовірності помилки - p<0,05 [5].

Результати та їх обговорення

При порівнянні результатів концентрації Л і П венозної крові новонароджених досліджуваних груп було встановлено достовірне підвищення обох показників у дітей із СПОН: вміст Л в основній групі відносно порівняльної склав відповідно 0,73±0,02 ммоль/л (Me=0,70; 50L=0,64; 50U=0,81; Σr=2258,0; n=52) та 0,49±0,01 ммоль/л (Me=0,49; 50L=0,46; 50U=0,51; Σr=157,0; n=17) (U=4,0; p<0,001); вміст П відповідно склав 0,08±0,002 ммоль/л (Me=0,08; 50L=0,07; 50U=0,1; Σr=2018,50; n=52) та 0,07±0,004 ммоль/л (Me=0,07; 50L=0,06; 50U=0,07; Σr=396,50; n=17) (U=243,5; p=0,0005).

Підвищення вмісту як Л так і П є характерним для органних уражень і критичних станів. Підвищення рівня Л традиційно зв'язують з тканинною гіпоксією, хоча існують і інші причини цього процесу, зокрема – підвищення активності Na+-K+-АТФ-ази при наявності нормоксії, або зниження кліренсу цього метаболіту печінкою. До підвищення рівня П можуть призводити дисфункція піруватдегідрогіназного комплексу, гіперактивність аеробного гліколізу при відсутності необхідності продукції енергоємних субстратів, посилення глюконеогенезу при розпаді білків. Всі ці процеси перебігають у позаклітинному просторі. Однак внутрішньоклітинна реакція перетворення П на ацетил-КоА означає його незворотне залучення в процес енергоутворення. Таким чином, для оцінки змін рівня Л і П в крові більш доцільним є не вимірювання абсолютних величин, а оцінка їх співвідношення (Л/П) [3].

При оцінці Л/П було встановлено, що у дітей із СПОН цей показник становив 9,20±0,33 умовних одиниць (ум. од.) (Me=9,11; 50L=7,47; 50U=10,5; Σr=2011,0; n=52), а у дітей без цього синдрому – 7,34±0,44 ум. од. (Me=7,21; 50L=5,87; 50U=8,70; Σr=404,0; n=17) (U=251,0; p=0,007).

Причиною таких змін можна вважати наявність клітинного енергодефіциту у новонароджених із СПОН. Це можна підтвердити даними активності СДГ. Цей фермент є енергоутворюючим, оскільки реакція «сукцинат-фумарат», яка проходить за наявності активності СДГ, дає 2 молекули аденозинтрифосфату. При порівнянні статистичних показників в обох групах не було виявлено різниці активності цього ферменту: у новонароджених із СПОН активність СДГ становила 0,02±0,001 ммоль/л-час (Me=0,02; 50L=0,01; 50U=0,02; Σr=1836; n=52), а у дітей без цього синдрому –0,02±0,001 ммоль/л-час (Me=0,02; 50L=0,01; 50U=0,01; Σr=579; n=17) (U=426,0; p=0,83). Однак, проведений кореляційний аналіз довів наявність прямого статистично значимого зв'язку між активністю СДГ і Л/П (r=0,25; p=0,04).

Реакція перетворення сукцинату в фумарат в присутності СДГ проходить на внутрішній мембрані мітохондрій [4, 6], отже, зважаючи на те, що Л/П є інтегративним показником клітинного енергозабезпечення і враховуючи наведений вище зв'язок між Л/П і СДГ можна припустити, що клітинний енергодефіцит у новонароджених із СПОН є проявом наявної мітохондріальної патології.

Висновки

1. У новонароджених із СПОН порівняно з дітьми без такого синдрому наявне достовірне підвищення рівнів Л і П в венозній крові;

2. У новонароджених із СПОН має місце клітинний енергодефіцит, про що свідчить підвищення інтегративного співвідношення Л/П;

3. Наявність прямого статистичного зв'язку між значеннями Л/П і рівнем активності СДГ дозволяє припустити, що клітинний енергодефіцит у новонароджених із СПОН є проявом мітохондріальної патології.

Література

1. Биологическая химия / Е. С. Северин, Т. Л. Алейникова, Е. В. Осипов, С. А. Силаева. - М.: Мед. информ. агентство, 2008. - 367 с.
2. Зайчик А.Ш. Основі патохимии / А.Ш Зайчик, Л.П. Чурилов.- СПб, 2001.-ЭЛБИ-СПб, 688 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико□биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С.Камышников.– 3-е изд.– М.: МЕД-пресс.-информ, 2009,– 896 с.
4. Методы общей бактериологии: пер с англ./ Под ред. Ф Герхардта и др.- М,: МИР, 1984.-472 с.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA / Реброва О. Ю. – М: Медиасфера, 2002. – 312 с.
6. Торшин В. А. Клиническое значение уровня лактата крови в лабораторной экспресс-диагностике / В.А. Торшин // Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией, 2006. - № 11. - С. 43-49.
7. Хазанов А.И. Клиническая неонатология / А.И. Хазанов.-СПб.: Гиппократ, 2009.-424 с.
8. Яковлев А.Ю. Реамберин в практике инфузионной терапии критических состояний (практические рекомендации) / А.Ю.Яковлев.-СПб., 2008.- 32 с.

Summary

METABOLITES OF GLYCOLYSIS AND SUCCINATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN NEWBORNS WITH MULTIPLE ORGAN FAILURE.

D.A. Shkurupiy

Key words: lactate, pyruvate, succinate dehydrogenase, newborns, multiorgan failure syndrom.

One of the major participants in cellular energy metabolism in pyruvate which metabolism produces 38 molecules of adenosine triphosphate. The sixth reaction of this pathway goes in the presence of succinate dehydrogenase. Under conditions of oxygen deficiency, pyruvate can be converted to lactate with the formation of only two molecules of adenosine triphosphate. Newborns have a high energy demand and thus they are the most susceptible to the development of energy shortages in critical conditions. With the aim of ascertainment of pathogenesis of newborns' multiorgan failure syndrom the research of lactate and pyruvate containing and succinate dehydrogenase activity of newborns venous blood with sequences to perinatal infection and neonatal asphyxia was performed, among them 52

persons had multiorgan failure syndrom and 17 didn't have it. In infants with multiple organ dysfunction syndrome the significant increase in lactate, pyruvate and their ratio, which shows the presence of cellular energy shortage was found. Also, there was a correlation between the activity and the ratio of lactate dehydrogenase and pyruvate. As succinate dehydrogenase is a mitochondrial enzyme, it is supposed, that cellular energy deficit of newborns with the multiorgan failure syndrom syndrome is a manifestation of mitochondrial pathology.
Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Матеріал надійшов до редакції 14.11.2012 р.