

Признаки нарушения клеточного энергообмена у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта в регионе с повышенным содержанием пестицидов

З.М. Омарова, Э.А. Юрьева, Е.И. Шабельникова, А.И. Хавкин, Е.С. Воздвиженская, И.М. Османов

Signs of impaired cell energy metabolism in children with gastrointestinal diseases

Z.M. Omarova, E.A. Yuryeva, E.I. Shabelnikova, A.I. Khavkin, E.S. Vozdvizhenskaya, I.M. Osmanov

Дагестанская медицинская академия, Махачкала; Московский НИИ педиатрии и детской хирургии

Обследованы дети с хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Признаки усиления анаэробного гликолиза были более выражены у городских пациентов, а более высокие показатели процессов пероксидации, а также увеличение количества и полиморфизм митохондрий в лимфоцитах — у большинства больных из региона, загрязненного пестицидами. В обеих группах выявлены дети с выраженным снижением количества и размеров митохондрий в лимфоцитах. Обсуждается необходимость коррекции выявленных изменений в комплексе лечения хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта у детей.

Ключевые слова: дети, болезни желудочно-кишечного тракта, анаэробный гликолиз, пероксидация, митохондрии.

Children with chronic gastrointestinal tract diseases were examined. The signs of enhanced anaerobic glycolysis were more pronounced in urban patients and the higher levels of peroxidation processes and increased number and polymorphism of lymphocyte mitochondria were seen in most patients from a pesticide-polluted area. Children with the markedly reduced number and sizes of lymphocyte mitochondria were identified in both groups. Whether the founded changes should be corrected in the treatment of chronic gastrointestinal tract diseases in children is discussed.

Key words: children, chronic gastrointestinal tract diseases, anaerobic glycolysis, peroxidation, mitochondria.

Энергообмен как на уровне целостного организма, так и в отдельной клетке представляет собой грандиозный комплекс процессов, сложнейшим и тончайшим образом организованный в пространстве и во времени и обеспечивающий фактически все стороны жизнедеятельности живого организма. Ключевым звеном этого комплекса является митохондрия — органелла общего назначения, имеющаяся в цитоплазме всех клеток и синтезирующая богатые энергетически соединения — макроэрги (АТФ, АДФ,

ЦТФ, ГТФ, ГДФ и др.) — жизненно важные компоненты для функции клеток. Нарушения клеточного энергообмена, в основе которых лежит митохондриальная недостаточность, ведут к многочисленным клиническим проявлениям — миопатии, кардиопатии, ферментопатии, нейропатии, офтальмопатии, нарушению обменных и транспортных процессов, иммунным нарушениям и др.

В настоящее время известно, что распространенность состояний, связанных с митохондриальной недостаточностью, не ограничивается наследственными синдромами, вызываемыми мутациями генов, непосредственно ответственных за митохондриальные белки. Умеренные нарушения клеточной биоэнергетики могут не проявляться в виде самостоятельного заболевания, однако сказываются на характере течения других болезней, особенно хронических, как вторичные звенья патогенеза [1–3]. В конечном итоге энергетические возможности клетки определяются запасами макроэргов и в первую очередь АТФ. Последний постоянно синтезируется в ходе двух клеточных процессов: гликолиза и биологического окисления субстратов (клеточное дыхание), которые находятся в тесном взаимодействии. Дыхание — основной путь

© Коллектив авторов, 2010

Ros Vestn Perinatol Pediat 2010; 3:72–76

Адрес для корреспонденции: Омарова Заира Магомедовна — к.м.н., доц. каф. педиатрии № 1 Дагестанской медицинской академии 367000 Махачкала, ул. Ленина, д. 1

Юрьева Элеонора Александровна — д.м.н., проф., гл.н.сотр. НИЛ общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Шабельникова Екатерина Игоревна — к.м.н., ст.н.сотр. той же лаборатории Хавкин Анатолий Ильич — д.м.н., проф., рук. центра гастроэнтерологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

Воздвиженская Екатерина Сергеевна — к.б.н., ст.н.сотр. НИЛ общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

Османов Исмаил Магомедович — д.м.н., проф., зам. директора МНИИ педиатрии и детской хирургии

образования макроэргов — осуществляется в митохондриях, недостаточность функции которых, особенно при гипоксии, частично восполняется гликолизом (анаэробный тип синтеза АТФ) [4].

В процессе дыхания, благодаря совместному действию большого числа ферментов, субстраты, образующиеся при метаболизме поступающих с пищей белков, жиров и углеводов, окисляются кислородом, также поступающим из окружающей среды, с образованием CO_2 , H_2O и энергии, выделяющейся в форме тепла и запасаемой в молекулах АТФ. Процессы, обеспечивающие поддержание определенного уровня АТФ в клетках организма, составляют основу и сущность их энергетического обмена.

Многие факторы окружающей среды и лекарственные препараты представляют собой важную причину патологических изменений митохондрий. К таким факторам относятся действие алкилирующих агентов (например, нитрозоаминов из окружающей среды), гидроксильных радикалов, высоких доз ультрафиолетового и ионизирующего излучения, лекарственных средств (цитостатики), таких химических агентов, как пестициды, соли тяжелых металлов, недостаток микроэлементов (селен, цинк).

Наиболее уязвимыми для действия токсикантов элементами биологической системы, обеспечивающей образование макроэргов в организме, являются механизмы биологического окисления (ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты дыхательной цепи), механизмы сопряжения биологического окисления и фосфорилирования (образование АТФ из АДФ и фосфата), механизмы доставки кислорода к клеткам крови. Угнетение активности энзимов гликолиза редко приводит к существенному нарушению энергетического обмена, так как метаболизм других веществ (белков, жиров) может компенсировать этот вид нарушения. Чаше наблюдается активация гликолиза.

Нарушение процессов биоэнергетики приводит к повреждению биологических систем, вплоть до их гибели. Токсиканты могут влиять на биоэнергетические процессы различными способами. Это может быть взаимодействие с сульфгидрильными группами ферментов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот с подавлением их активности, блокирование ферментов дыхательной цепи митохондрий, разобщение процессов биологического окисления и фосфорилирования, нарушение транспорта синтезированной АТФ из митохондрий в цитоплазму. Непрямым следствием цитотоксического действия является понижение токсикантами парциального давления кислорода в тканях, особенно в мозге. Кроме того, нарушение структуры и функции цитомембран является причиной нарушения гомеостаза кальция в клетках, где изменяется «кальциевая емкость» митохондрий с выходом избытков ионов кальция и последующим каскадом патологических реакций в клеточной биоэнергети-

ке. Патологический эффект стойкого повышения содержания кальция в цитоплазме связан с повреждением целостности цитоскелета и неконтролируемой активацией катаболических ферментов (фосфолипаз, протеаз, эндонуклеаз) [4].

Важнейшим фактором нарушения функций митохондрий является активация свободно-радикальных процессов. Образовавшиеся под действием внешних факторов свободные радикалы кислорода вступают в многочисленные реакции с различными компонентами клеток, образуемые вторичные радикалы не только повреждают разные биомолекулы, но и провоцируют цепные реакции дальнейшего образования активных радикалов из липидов, аминокислот, нуклеиновых кислот и т.д. Общий эффект такого каскада радикалинизирующих реакций проявляется значительным нарушением физиологии клетки, повреждением ее структур, более всего мембранных, включая мембраны митохондрий.

Целью работы явилось определение показателей состояния клеточной биоэнергетики у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, проживающих в различных экологических регионах.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы дети из региона с постоянным применением пестицидов, находящиеся под диспансерным наблюдением в связи с заболеваниями желудочно-кишечного тракта: 1-я группа пациентов ($n=25$) из сельскохозяйственного региона и 2-я группа пациентов ($n=15$), проживающих в городе. Возраст больных детей от 6 до 15 лет; средний возраст детей в группах составлял $12,5 \pm 2$ и $12,0 \pm 3$ года соответственно. В обеих группах детей преобладали следующие заболевания: гастродуоденит (60 и 75%* соответственно в городе и в сельскохозяйственном регионе), дисфункция билиарного тракта (50 и 45% соответственно), энтероколит (10 и 18% соответственно), реактивный панкреатит (38 и 40%) и др.

Биохимические показатели энергообмена в основном неспецифичны для какой-то одной нозологии. В связи с этим для определения состояния клеточного энергообмена в качестве ориентировочных критериев использовалось определение концентрации лактата и пирувата, а также их соотношение в периферической крови, моче, слюне.

Цитохимический анализ ферментного статуса сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов периферической крови зарекомендовал себя как метод ранней диагностики митохондриальной недостаточности [1]. С помощью цитохимического анализа проводилась средняя количественная оценка активности указан-

* Здесь и далее % вычислен условно, так как количество больных <100.

ного фермента. Активность сукцинатдегидрогеназы выражалась в условных единицах, учитывалось среднее количество гранул формазана (митохондрий) в лимфоците. Оценивались также качественные показатели гранул (форма, размеры, распределение, интенсивность окрашивания, тенденция к кластерообразованию). Исследование активности сукцинатдегидрогеназы было проведено у детей двух групп и 20 практически здоровых детей школьного возраста.

У всех больных детей изучали содержание перекиси и оксида азота (NO) в слюне и моче. В лейкоцитах периферической крови определяли сенсибилизацию к перекиси (реакция Фентона) и пестицидам (реакция лейкоцитолитиза), а также другие показатели, характеризующие состояние процессов перекисного окисления и анаэробного гликолиза в организме (см. таблицу) [5, 6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что показатели анаэробного гликолиза (уровень лактата и пирувата) во всех исследованных средах (кровь, слюна, моча) в обеих группах детей

с заболеваниями желудочно-кишечного тракта были изменены по сравнению с показателями у здоровых детей. Как представлено в таблице, наибольшее увеличение содержания лактата по сравнению с нормой отмечалось у детей, проживающих в городе, в отличие от детей из сельскохозяйственного региона, у которых данный показатель повышался лишь умеренно (кровь, моча) либо вообще не повышался (слюна). Это свидетельствует о том, что гипоксический синдром был более выражен у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, проживающих в городе. Уровень пирувата также был в большей степени повышен в слюне и моче у городских детей, чем у сельских, что подтверждает вывод о более выраженном гипоксическом синдроме у городских пациентов.

Напротив, при анализе показателей процессов перекисного окисления установлено, что количество перекисей в слюне и моче было значительно больше у детей из сельского региона по сравнению с городскими пациентами, хотя и в последнем случае отмечено умеренное повышение содержания перекисей в слюне и моче. Кроме того, у детей из сельского

Таблица. Лабораторные признаки нарушения клеточного энергообмена у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта

Среда	Показатель	Норма	Дети, проживающие в городе (n=15)	Дети из сельскохозяйственного региона (n=25)
Кровь	Реакция Фентона, %	10—15	32±2**	40,5±4**
	Реакция лейкоцитов на пестициды, %	10—18	—	44,1±5**
	Лактат, мкмоль/л	0,2±0,02	0,3±0,03*	0,237±0,02*
	Пируват, мкмоль/л	0,02±0,002	0,03±0,003*	0,036±0,003**
	Лактат/пируват	3—10	10±1	7±0,7
	Сукцинатдегидрогеназа лимфоцитов, ед.	20,04±1,0	а) 20,6±1,1 б) 12,5±1,0**	а) 22,5±0,5* б) 12±2,0**
	Гетерогенность митохондрий	—	— Выражена	Выражена ,,
	Ксантиноксидаза, ед.	120±10	232±20	359±60
Слюна	Лактат, мкмоль/ммоль креатинина	0,2±0,01	0,91±0,1**	0,14±0,05
	Пируват, мкмоль/ммоль креатинина	0,02±0,001	0,31±0,1**	0,03±0,001
	Лактат/пируват	8	3	4
	H ₂ O ₂ , ед/ммоль креатинина	0	0,29±0,01**	0,54±0,05**
	NO, ед/ммоль креатинина	0	1,25±0,3	2,0±0,2**
	Липиды, ед/ммоль креатинина	0	0,2±0,01*	0,12±0,01
	Кальций, ед/ммоль креатинина	0,08±0,005	0,14±0,01*	0,19±0,02*
	Фосфаты, ед/ммоль креатинина	0,08±0,005	0,2±0,01*	0,22±0,02*
Моча	Лактат, мкмоль/ммоль креатинина	<0,05	0,24±0,03**	0,12±0,01**
	Пируват мкмоль/ммоль креатинина	<0,01	0,066±0,01**	0,05±0,005**
	Лактат/пируват	7	4	3
	H ₂ O ₂ , ед/ммоль креатинина	0	0,33±0,1	0,38±0,03*
	NO, ед/ммоль креатинина	0	0,23±0,03	2,6±0,3**
	Липиды	0	0,07±0,02	0,05±0,002

Примечание. * — $p < 0,5$; ** — $p < 0,01$.

региона была выявлена резко повышенная чувствительность (сенсibilизация) лейкоцитов к перекиси в реакции Фентона, в отличие от городских пациентов, у которых указанная чувствительность была незначительно выше, чем у здоровых детей. Наряду с высокой сенсibilизацией лейкоцитов к перекиси у детей из сельской местности была резко повышена активность ксантиноксидазы сыворотки крови — фермента, обуславливающего инициацию процессов перекисидации в организме. У городских пациентов ни в одном случае не выявлено резкого повышения активности ксантиноксидазы по сравнению с нормой, отмечено лишь умеренное повышение ее активности.

При анализе содержания в слюне и моче другого фактора активации перекисных процессов — NO было обнаружено резкое его повышение у больных детей из сельскохозяйственного региона. У городских пациентов также выявлялось увеличение содержания NO в слюне и моче, но в значительно меньшей степени, чем у сельских. Происхождение NO в обеих группах, по-видимому, связано с эндогенной интоксикацией при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, однако значительно более выраженное превышение содержания NO у больных из сельскохозяйственного региона возможно связано с экзогенным фактором (пестициды).

Лейкоцитарный индекс интоксикации (соотношение гранулоцитарного и агранулоцитарного ростков белой крови) у городских детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта был изменен по сравнению с нормой в 70% случаев: 35% детей имели низкие показатели (менее 0,7) и 35% — высокие (до 2), что было обусловлено либо нейтропенией, либо лимфопенией соответственно [7]. У детей с аналогичными заболеваниями, проживающих в сельскохозяйственном регионе, загрязненном пестицидами, практически во всех случаях данный показатель был выше нормы (1,6—2,3 при норме $1,2 \pm 0,1$).

На фоне перечисленных изменений перекисных процессов и анаэробного гликолиза (гипоксия) было показано, что нарушения функционального состояния митохондрий были умеренными, но неоднозначными в обеих группах больных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта: у 89% детей из сельского региона отмечено стойкое повышение активности сукцинатдегидрогеназы по сравнению с возрастной нормой. У городских детей такого повышения активности данного фермента не отмечалось, его активность была в пределах возрастной нормы у 70% обследованных. В то же время в обеих группах выявлены пациенты со значительным снижением активности сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах по сравнению с нормой (11 и 33% сельских и городских пациентов соответственно). Показано, что у детей из сельской местности имела место разница в количестве гранул формазана в отдельных клетках (от 5 до 30),

а также в половине случаев отмечалось различие в размерах гранул (увеличение содержания мелких) в каждой клетке. У городских пациентов такой полиморфизм в количестве и размерах гранул почти не обнаруживался (см. таблицу). В обеих группах полиморфизм количества и размеров гранул наблюдались при значительном снижении содержания гранул лимфоцитов. Детям с низкой активностью сукцинатдегидрогеназы было свойственно торпидное к лечению заболевание желудочно-кишечного тракта с непрерывно-рецидивирующим течением.

В качестве иллюстрации приводим пример. Ребенок П., 9 лет, проживает в сельскохозяйственном регионе. Ребенок от 3-й беременности, 3-х родов, масса тела при рождении 3900 г, длина тела 60 см. С раннего возраста постоянно жалуется на боль в животе, сниженный аппетит, тошноту, периодически — рвоту; часто болеет острыми респираторными вирусными инфекциями.

Наблюдается с 1 года с диагнозом: дискинезия желчевыводящих путей, гастродуоденит, реактивный панкреатит. В течение всего периода наблюдения (около 8 лет) отмечается низкий показатель гемоглобина в крови (86—97—107 г/л), снижение количества эритроцитов ($3,5—3,2 \cdot 10^{12}/л$ до $4,1 \cdot 10^{12}/л$), периодическое повышение СОЭ (до 30—37 мм/ч). При обследовании лейкоцитарный индекс интоксикации составил 2,3 (норма 1—1,5). Уровень ксантиноксидазы в крови 527 ед. (норма 80—120 ед.), реакция Фентона — 50% гибели клеток, реакция на пестициды — 90% гибели клеток (норма до 18%). В моче отмечено значительное повышение содержания NO (3 ед., норма 0), снижение до 40% (норма >50%) антиоксидантной активности, повышение экскреции фосфатов, кальция, лактата (0,12 мкмоль/моль креатинина) и пирувата (0,062 мкмоль/моль креатинина), выраженное повышение экскреции средних молекул (1,10 ед., норма до 0,4 ед.), гликозаминогликанов (0,8 ед. при норме 0). В слюне повышено количество лактата и пирувата, гликозаминогликанов NO (2 ед.), перекисей — 30 ед. (при норме 0), фосфатов, кальция, белка (1‰) при pH 8,0 (норма), большое количество эритроцитов (более 20 в поле зрения). Антиоксидантная активность снижена до 0 (норма >50%). Показатель активности сукцинатдегидрогеназы митохондрий лимфоцитов резко снижен — 12 ед. при возрастной норме 18—23 ед., отмечается значительное уменьшение размеров гранул.

Таким образом, у ребенка с хроническим течением заболевания желудочно-кишечного тракта имеет место повышение активности процесса перекисидации с активацией ксантиноксидазы до 527 ед., снижение антиоксидантной активности слюны и мочи, повышение содержания перекисей в слюне и моче, выраженная сенсibilизация лейкоцитов к перекисным соединениям, повышение уровня лактата и пирува-

та в моче, а также выраженное снижение активности сукцинатдегидрогеназы и изменение структуры митохондрий, что, несомненно, является фактором, отягощающим течение патологического процесса в желудочно-кишечном тракте.

Представленные данные свидетельствуют о полисистемном нарушении клеточного энергообмена у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. В ряде случаев изменения проявляются резким снижением активности дыхательного фермента сукцинатдегидрогеназы, уменьшением размеров и количества митохондрий (гранул формазана) в лимфоцитах. Однако чаще у детей из сельскохозяйственного региона имеет место увеличение активности сукцинатдегидрогеназы и количества митохондрий в клетках при увеличении их полиморфизма (разные размеры митохондрий в клетке). У детей, проживающих в городе, не отмечалось увеличения активности сукцинатдегидрогеназы, колебания которой были в пределах возрастной нормы.

В обеих группах пациентов школьного возраста с заболеваниями желудочно-кишечного тракта изменения в митохондриях клеток выявлялись на фоне активации перекисных процессов и повышенного содержания NO в слюне и моче. Однако у детей из сельскохозяйственного региона количество NO и перекисей в слюне и моче, активность триггерного фермента перекисных процессов — ксантиноксидазы и гиперчувствительность лейкоцитов к перекиси были значительно более выражены, чем у городских

детей. В то же время в отличие от сельских пациентов у детей, проживающих в городе, были более выражены признаки активации анаэробного гликолиза, т.е. гипоксии. Очевидна необходимость коррекции процессов перекисного окисления и биоэнергетических процессов в обеих группах детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта, особенно в условиях экзогенной нагрузки организма поллютантами (пестициды, азотистые удобрения).

ВЫВОДЫ

1. У детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта имеет место системная модификация биоэнергетического обмена на фоне усиления процессов перекисидации и активации анаэробного гликолиза.
2. Для больных детей характерна гетерогенность (полиморфизм) размеров митохондрий в лимфоцитах, а также гетерогенность в количестве гранул формазана в клетках. Эффект более выражен у больных детей из сельскохозяйственного региона.
3. У детей обеих групп с вялотекущим, часто рецидивирующим течением заболевания желудочно-кишечного тракта отмечается выраженное снижение количества митохондрий в клетках.
4. При постоянном воздействии пестицидов из окружающей среды у детей из сельскохозяйственного региона значительно более выражено повышение процессов перекисидации и выше гетерогенность митохондрий в лимфоцитах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухоруков В.С., Николаева Е.А. (ред.). Нарушение клеточного энергообмена у детей. М.: ООО «Атекс.Мед.софт». 2004, 80 с.
2. Сухоруков В.С., Клейменова Н.В., Шурова Л.В. Активность митохондриальных ферментов в иммунокомпетентных и фагоцитирующих клетках периферической крови у детей с различными формами послеожогового рубцевания / В сб.: Митохондрии в патологии. ИТЭБ РАН, МНИИ-ПидХ МЗ РФ: Пушкино, 2001. С. 63—64.
3. Сухоруков В.С. Энергодефицитный диатез у детей. М.: Медпрактика-М. 2009. 28 с.
4. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб: Фолиант, 2004. 718 с.
5. Юрьева Э.А., Длин В.В. Диагностический справочник нефролога. М.: Оверлей, 2007. 355 с.
6. Шабельникова Е.И. Морфофункциональные характеристики митохондрий лимфоцитов у детей при различных формах недостаточности клеточного энергообмена. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. 28 с.
7. Островский В.К., Свитич Ю.Н. ЛИИ при острых гнойных и воспалительных заболеваниях легких //Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 1983. Т. 131, № 11. С. 21—24.

Поступила 12.01.10