СОСТОЯНИЕ ОБМЕНА КАТЕХОЛАМИНОВ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ АСПЕРГЕРА

А.С. Горина¹, Л.С. Колесниченко², В.И. Кулинский², В.И. Михнович³

(¹Sick Children Hospital, Research Institute 555 University Ave., Toronto, ON M5G 1X8, ²Иркутский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.В. Малов, кафедра биоорганической и бионеорганической химии, зав. – д.м.н., проф. Л.С. Колесниченко, кафедра биохимии, зав. – д.м.н., проф. В.И. Кулинский, ³НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, директор – д.м.н., проф. член-корр. РАМН Л.И. Колесникова)

Резюме. У детей с синдромом Аспергера при ухудшении состояния обнаружено снижение экскреции норадреналина и повышение экскреции гомованилиновой кислоты параллельно со снижением норадреналина и повышением гомованилиновой кислоты в сыворотке крови, а увеличение экскреции адреналина и 3-метокси-4-гидроксифенилгликоля сочеталось с неизменным уровнем их в сыворотке крови. Обнаружен дисбаланс дофаминэргической и норадренэргической систем. В стабильном состоянии наиболее информативным является комбинированный анализ уровней катехоламинов и их метаболитов.

Ключевые слова: синдром Аспергера, ранний детский аутизм, катехоламины, дофамин, норадреналин, тирозин.

METABOLISM OF CATECHOLAMINES IN CHILDREN WITH ASPERGER SYNDROME

A.S. Gorina¹, L.S. Kolesnichenko², V.I. Kulinsky², V.I. Michnovich³

(¹Sick Children Hospital, Research Institute 555 University Ave., Toronto, ON M5G 1X8, ²Irkutsk State Medical University, ³Scientific Center for Problems of Family Health and Human Reproduction, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences)

Summary. In children with Asperger syndrome in aggravated state, we have found a decrease of excretion of norepinephrine and an increase in excretion of homovanilic acid in parallel with a decrease in norepinephrine whereas an increase in homovanilic acid in serum and an increase in excretion of epinephrine and 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol occurred in parallel with no change in their levels in serum. Imbalance of dopaminergic and norepinephrine systems has been observed. In a stable state, a combined analysis of the levels of catecholamines and their metabolites is the most informative.

Key words: Asperger syndrome, early childhood autism, catecholamines, dopamine, norepinephrine, tyrosine.

По данным мировой статистики с начала 1980-х годов наблюдается 10-кратное увеличение заболеваемости аутизмом. Синдром Аспергера неясной нозологической обоснованности характеризуется таким же типом качественных аномалий социального воздействия, что и аутизм, наряду с ограниченным, стереотипным, навязчивым и повторяющимся репертуаром интересов и деятельности. От аутизма отличается, прежде всего, отсутствием общей задержки или замедления языка или когнитивного развития. Большинство индивидов имеют не только нормальный уровень интеллекта, но и ведут себя как «маленькие профессора», однако часто характеризуются заметной неуклюжестью. Литературные данные по обмену катехоламинов при аутизме противоречивы, трудно согласуемы друг с другом и требуют более четкого подхода к подбору обследуемых групп [5-8].

Целью данной работы было изучение концентрации тирозина, дофамина, гомованилиновой кислоты, норадреналина, адреналина, норметанефрина, метанефрина, ванилилминдальной кислоты и 3-метокси-4-гидроксифенилгликоля в сыворотке крови и моче при ухудшении состояния и в стабильном состоянии.

Материалы и методы

Было обследовано 26 детей с синдромом Аспергера в возрасте от трех до семи лет из детского областного реабилитационного центра и клиники нервных болезней института педиатрии и репродукции человека ВСНЦ СО РАМН и клиники медицинского факультета университета Генриха Гейне (Дюссельдорф, Германия). Диагноз раннего детского аутизма (РДА) в исследуемой группе 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 мочи, отобранных в России и Германии, с применением двойного слепого метода, в целях повышения качества анализов и воспроизводимости результатов исследований. Пробы,

отобранные у пациентов в России, отправлялись замороженные при низкой температуре в Германию и анализировались в клинике медицинского факультета университета Генриха Гейне (Дюссельдорф). Пробы, отобранные у пациентов в Германии, аналогичным образом, отправлялись для анализа в Россию. Исследования проводились в течение 5 лет и были завершены в конце 2002 г. 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». Протокол исследований был одобрен на заседаниях комитетов по биоэтике Восточно-Сибирского научного центра РАМН и медицинского факультета университета Генриха Гейне Дюссельдорф, Германия.

Для получения плазмы венозная кровь собиралась утром натощак, в 10-мл ЭДТА пробирки. Пробы крови центрифугировались (не позже, чем через 30 минут после взятия крови) при 1500g в течение 10 минут при температуре 4°C. Полученная плазма отделялась и смешивалась с 50 мкл 5 мМ метабисульфита натрия (для предотвращения окисления катехоламинов). Моча собиралась в течение суток в стерильные контейнеры из темного стекла, содержащие 6 М HCl, 0,5 мл на каждый час сбора мочи (pH = 2-3, для предотвращения окисления свободных катехоламинов). Аликвоты объемом 1 мл смешивались с 10мкл 5 мМ метабисульфита натрия. Образцы всех биожидкостей немедленно после взятия замораживались при -20°C в пластиковых пробирках и хранились при -70°C. Экстракция катехоламинов (адреналина, норадреналина, дофамина) и их метаболитов (МГФГ, ванилилминдальной кислоты и гомованилиновой кислоты) проводилась сходным образом.

Образцы биожидкостей (плазмы, мочи) центрифугировались, и супернатант подвергался депротеинизации трихлоруксусной кислотой. После повторного центрифугирования и добавления внутреннего стандарта проводилась адсорбция аналитов в экстракционных картриджах Waters Oasis HLB (Milford, USA) с после-

дующей промывкой, элюированием метанолом и центрифугированием. Элюат удалялся испарением в потоке азота, и сухой остаток растворялся в подвижной фазе. Растворы хранились при температуре 4°C до проведения хроматографии.

Высокопроизводительная жидкостная хроматография. Использовалась система высокопроизводительной жидкостной хроматографии с переключением колонок (HPLC-725 CAI; Tosoh Corp, Japan) и селективной флуорометрической детекцией (флуорометр Шимадзу RF-10AXL). Использовались колонки обратной фазы Nucleosil C-18, 250 - 4.6 мм (Macherey Nagel AG). Хроматография катехоламинов проводилась в подвижной фазе на основе цитрат-фосфатного буфера (pH = 3,0), содержащего 2 mM Na₂ЭДТА и 1,5 mM гептансульфоната натрия как ион-парного реагента. Хроматография метанефринов (метанефрина и норметанефрина) проводилась в подвижной фазе на основе 160 mM монохлоруксусной кислоты, 2 mM ЭДТА, 0,24 mM Na октилсульфата и 33 мл/л ацетонитрила (pH = 2,8). МГФГ, гомованилиновая и ванилилминдальная кислоты анализировались с помощью колонки Ultrasphere IP 150 мм x 4,6 мм (Beckman) в подвижной фазе, состоявшей из смеси метанола и водного раствора 5 mM лимонной кислоты, 20 мг/л октансульфоновой кислоты и 20 мг/л ЭДТА (pH = 2,9). Температура элюента во всех случаях была 35°C, скорость потока элюента 1 мл/мин, объем нанесенных образцов 70 мкл. Использовались реактивы и контрольные материалы фирм Beckman и Sigma.

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка, статистическая значимость отличий средних определялась с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В сыворотке крови детей с синдромом Аспергера при ухудшении состояния наблюдается снижение содержания тирозина на 17%, норадреналина (НА) – на 35%, норметанефрина (НМН) – на 20% и повышение дофа-

мина на 26% и гомованилиновой кислоты (ГВК) – главного конечного метаболита дофамина (ДА) – на 52%. Концентрация адреналина и других метаболитов норадренергической/адренергической систем: метанефрина (МН), 3-метокси-4-гидрокси-фенилгликоля (МГФГ), ванилилминдальной кислоты (ВМК) не изменяется (табл. 1). В моче детей при ухудшении состояния обнаружено увеличение экскреции ГВК на 23%, адреналина – на 46% и МГФГ – на 20% и снижение НА на 38% (табл. 2).

Снижение экскреции НА и повышение экскреции ГВК наблюдалось параллельно с повышением ГВК и сни-

Таблица 2
Изменения в уровне катехоламинов и их метаболитов в моче при раннем детском аутизме (синдром Аспергера) в стабильном состоянии и при ухудшении состояния (M±m)

Показатели	Моча (нмоль/л)		
	Контроль (n=150)	Стабильное состояние (n=33)	Ухудшение состояния (n=33)
Тирозин	73650±1305	72625±3920	70750±5290
Дофамин	740,27±15,25	733,94±57,66	678,43±32,32
Гомованилиновая кислота (ГВК)	16936±315	18793±1451	20881±1073***
Норадреналин	116,17±2,57	85,65±4,08***	71,69±4,38***
Адреналин	51,66±0,85	54,01±3,81	75,25±3,65***
Норметанефрин	457,14±12,6	465,81±28,87	470,93±27,35
Метанефрин	182,26±4,58	190,37±10,19	193,43±14,88
3-метокси-4-гидроксифенилгликоль (МГФГ)	9334±235	8331±490	11237±827*
Ванилилминдальная кислота (ВМК)	21077±474	19725±881	20100±925

Примечание: значимость отличий от контроля: * - p < 0,05; ** - p < 0,01; *** - p < 0,001.

жением НА в сыворотке крови, а увеличение экскреции адреналина и МГФГ сочеталось с неизменным уровнем их в сыворотке крови. В литературе описаны изменения тирозина, катехоламинов и всех метаболитов катехоламинов при аутизме самой различной направленности – как повышение, так и снижение, а также отсутствие изменений [1-3,6]. Однако изменения отдельных метаболитов менее информативны, чем комбинированный анализ уровней НА, А, ДА и их метаболитов в крови и моче [4].

При ухудшении состояния снижается отношение (НА+НМН)/(НА+НМН+МГФГ+ВМК) в сыворотке крови с 0,04 до 0,03, моче с 0,0185 до 0,0170, ДА/ГВК – с 0,0156 до 0,0130 и с 0,0437 до 0,0325, НА/ВМК – с 0,0127 до 0,0086 и с 0,0055 до 0,0036. Уменьшение отношения (НА+НМН)/(НА+НМН+МГФГ+ВМК) и НА/ВМК на фоне снижения концентрации НА в сыворотке крови свидетельствует о снижении интенсивности метаболизма НА и НМН, тогда как снижение отношения ДА/ГВК можно рассматривать как усиление метаболизма ДА.

Кроме того, повышается отношение ГВК/ВМК в сыворотке крови с 0,458 до 0,727 и в моче с 0,804 до 1,04, ГВК/МГФГ – с 1,67 до 2,40 и с 1,81 до 1,86, ГВК/(ВМК+МГФГ) – с 0,36 до 0,56 и с 0,56 до 0,67, что свидетельствует о дисбалансе дофаминергической и норадренергической систем. В стабильном состоянии у этих детей в сыворотке крови остается повышенным уровень ГВК – 17% вместо 52% и сниженной концентрация НА, кото-

Таблица 1
Изменения в уровне катехоламинов и их метаболитов в сыворотке крови при раннем детском аутизме (синдром Аспергера) в стабильном состоянии и при ухудшении состояния (M±m)

Показатели	Сыворотка (нмоль/л)		
	Контроль (n=150)	Стабильное состояние (n=33)	Ухудшение состояния (n=33)
Тирозин	80232±1451	84375±6101	66625±4387**
Дофамин	0,46±0,01	0,47±0,04	0,58±0,03***
Гомованилиновая кислота (ГВК)	29,46±0,71	34,38±1,82*	44,74±2,37***
Норадреналин	0,82±0,02	0,49±0,03***	0,53±0,03***
Адреналин	0,39±0,01	0,37±0,02	0,36±0,01
Норметанефрин	2,87±0,06	2,75±0,15	2,30±0,16***
Метанефрин	1,16±0,03	1,15±0,05	1,15±0,07
3-метокси-4-гидроксифенилгликоль (МГФГ)	17,67±0,44	17,60±0,66	18,63±1,23
Ванилилминдальная кислота (ВМК)	64,32±5,43	57,40±3,62	61,56±7,2

Примечание: значимость отличий от контроля: * - p < 0,05; ** - p < 0,01; *** - p < 0,001.

рая не отличается от данных при ухудшении состояния. В моче сохраняется снижение экскреции только НА на 26% вместо 38%. Остальные показатели не отличаются от контроля. В стабильном состоянии остаются повышенными отношения ГВК/МГФГ в сыворотке крови 1,95, что меньше чем при ухудшении состояния – 2,40, но выше чем в контроле 1,67, в моче даже выше чем при ухудшении состояния 2,26 вместо 1,86, ГВК/ВМК 0,599 меньше чем при ухудшении состояния 0,727, но выше чем в контроле 0,458, сниженными остаются отношения ДА/ГВК 0,0137 в сыворотке крови и 0,039 в моче, а так-

же отношение НА/ВМК 0,0085 и 0,0043.

Таким образом, в стабильном состоянии у больных с синдромом Аспергера главным показателем является снижение НА с незначительным увеличением ГВК. Однако уже в стабильном состоянии четко видны изменения в дисбалансе норадренергической и дофаминергической системах в сторону усиления метаболизма дофамина. Поэтому для изучения патогенеза и диагностики наиболее полезным является комбинированный анализ сдвигов катехоламинов и их метаболитов в крови и моче.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barthelemy C., Bruneau N., Cottet-Eymard J., et al. Urinary free and conjugated catecholamines and metabolites in autistic children // J. Autism Dev. Disord. – 1988. – Vol. 18. №4. – P.583-591.
2. Cook E.H. Autism: review of neurochemical investigation // Sinapse. – 1990. – Vol. 6. №3. – P.292-308.
3. Croonenberghs J., Delmeire L., Verkerk R., et al. Peripheral Markers of Serotonergic and Noradrenergic Function in Post-Pubertal, Caucasian Males with Autistic Disorder // Neuropsychopharmacology. – 2000. – Vol. 136. №4. – P.275-283.
4. Eisenhofer G., Kopin I.J., Goldstein D.S. Catecholamine Metabolism: A Contemporary View with Implications for Physiology and Medicine // Pharmacol. Rev. – 2004. – Vol. 38.

– P.331-349.

5. Martineau J., Barthelemy C., Jouve J., et al. Monoamines (serotonin and catecholamines) and their derivatives in infantile autism: age-related changes and drug effects // Dev. Med. Child. Neurol. – 1992. – Vol. 21. №5-6. – P.511-518

6. Minderaa R.B., Anderson G.M., Volkmar F.R., et al. Noradrenergic and adrenergic functioning in autism // Biol. Psychiatry. – 1994. – Vol. 36. №4. – P.237-241.

7. Nagy O., Kelemen O., Benedek G., et al. Dopaminergic contribution to cognitive sequence learning // J. Neural. Transm. – 2007. – Vol. 114. №5. – P.607-612.

8. Previc F.H. Prenatal influences on brain dopamine and their relevance to the rising incidence of autism // Med. Hypotheses. – 2007. – Vol. 68. №1. – P.46-60.

Информация об авторах: 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, тел. (3952) 24-42-61, e-mail: kolesnichenkols@mail.ru; Колесниченко Лариса Станиславовна – заведующая кафедрой, профессор, д.б.н.; Кулинский Владимир Ильич – заведующий кафедрой, профессор, д.м.н.; Горина Анна Сергеевна – сотрудник детского госпиталя, Торонто; Михнович Ванда Иосифовна – сотрудник НИЦ проблем семьи и репродукции человека СО РАМН.

© СОКОЛОВА Н.А., ВИТКОВСКИЙ Ю.А., ГОВОРИН А.В., БОЙКО Е.В. – 2010

РОЛЬ НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНЫХ АРИТМИЙ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Н.А. Соколова, Ю.А. Витковский, А.В. Говорин, Е.В. Бойко

(Читинская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., проф. А.В. Говорин, кафедра факультетской терапии, зав. – д.м.н., проф. А.В. Говорин)

Резюме. У больных с острым отравлением уксусной кислотой (ОУК) в 1-2 сутки заболевания достаточно часто (в 50,8%) регистрируются сердечные аритмии. У этих больных отмечено снижение общей вариабельности ритма сердца и угнетение вагусных влияний, наряду с активацией симпатической нервной системы. Выявлено повышение СЖК и продуктов липопероксидации в сыворотке крови, наиболее выраженное у больных с острым отравлением уксусной кислотой с сердечными аритмиями.

Ключевые слова: острое отравление уксусной кислотой, вариабельность ритма сердца, симпатикотония, свободные жирные кислоты, глицерол, продукты ПОЛ.

ROLE OF SOME METABOLIC DISTURBANCES IN DEVELOPMENT OF CARDIAC ARRHYTHMIAS IN PATIENTS WITH ACUTE POISONING WITH ACETIC ACID

N.A. Sokolova, A.V. Govorin, Yu.A. Vitkovsky, E.V. Bojko

(Chita State Medical Academy)

Summary. In the patients with acute poisoning with acetic acid in 1-2 days of disease cases of cardiac arrhythmias (50,8%) are often registered. Depression of the general variability of a heart rhythm and oppression of vagal influences along with activation of sympathetic nervous system become perceptible. Substantial increase of FFA and products of the lipid peroxidation in blood serum of the given category of patients is the most expressed in group of patients with cardiac arrhythmias.

Key words: an acute poisoning with acetic acid, variability of cardiac rhythm, a sympathicotonia, free fat acids, glycerol, products of lipid peroxidation.

В последние десятилетия в России неуклонно растет число суицидов, особенно среди жителей сельской местности. В Читинской области показатель самоубийств на селе в 2007 году достиг своеобразного рекорда, составив 105,4 на 100 тыс. населения [4].

Одним из ведущих мест в структуре суицидов занимают отравления концентрированной уксусной кислотой, что связано с ее широкой доступностью и постоянным использованием в домашнем хозяйстве. Острые

отравления уксусной кислотой относятся к наиболее тяжелым. В результате массивной плазмопотери и выраженного болевого синдрома происходит уменьшение объема циркулирующей крови, снижение сердечного выброса, ударного и минутного объема сердца, центрального венозного давления и скорости кровотока, что формирует развитие острой недостаточности кровообращения, которая классифицируется как экзотоксический шок по гиповолемическому типу [7,15].