

К. И. Пагава ¹⁾, Э. Д. Оболадзе ¹⁾, Е. А. Чикобава ²⁾, Г. В. Сукоян ²⁾

СИСТЕМА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

¹⁾Кафедра педиатрии и подростковой медицины Тбилисского государственного медицинского университета,
²⁾Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики и внедрения новых биомедицинских технологий, г. Тбилиси, Грузия

Обследовано 37 доношенных новорожденных, из которых 13 — практически здоровых и 24 — перенесших перинатальную гипоксию. У всех детей документирована транзиторная постгипоксическая ишемия мозга и миокарда. Установлено, что между активностью Mn-зависимой супероксиддисмутазы и суммарным содержанием цитохромов а, b, с в крови практически здоровых новорожденных существует тесная прямая корреляционная взаимосвязь — $r = 0,91$ ($p < 0,0001$) и $r = 0,74$ ($p < 0,01$) в пуповинной и периферической крови соответственно. При острой и при сочетании острой и хронической гипоксии эта зависимость полностью исчезает ($r = 0,15$, $r = 0,09$, $r = 0,49$, $r = 0,185$, $p > 0,05$ во всех случаях). При этом на постгипоксические нарушения наслаивается оксидативный стресс — вместо компенсаторного снижения отношение общей оксидантной к антиоксидантной активности в пуповинной крови увеличивается в 2 раза, происходит снижение активности супероксиддисмутазы как цитозольной (Cu-Zn-зависимой), так и митохондриальной (Mn-зависимой), а также каталазы и повышается содержание малонового диальдегида. Показано, что на фоне традиционной терапии на 3-и сутки неонатального периода в крови сохраняется энергодефицитное состояние, о чем свидетельствует резкое снижение редокс-потенциала НАД/НАД⁺СН, повышенное содержание цитохромов и высокая общая оксидантная активность.

37 neonates were examined, including 13 practically healthy children and 24 children with history of perinatal hypoxia. Transient posthypoxic brain and myocardiac ischemia was documented in all cases. Authors proved that Mn-dependent superoxid dismutase activity positively correlated with cytochromes a, b, c total concentration in cord and peripheral blood of healthy neonates ($r = 0,91$, $p < 0,0001$ and $r = 0,74$; $p < 0,01$ correspondingly). This dependence disappeared completely in cases of acute hypoxia and combination of acute and chronic hypoxia. Oxidative stress added to posthypoxic changes in these cases instead of compensatory decreasing. Total oxidant activity anti-oxidant activity ratio in cord blood increased twice, activity of superoxid dismutase (both cytosol Cu-Zn dependent and Mn-dependent mitochondrial) decreased, such as catalase activity; concentration of malone dialdehyde increased. Authors showed that state of energy deficiency persisted in neonatal blood in 3rd day of life despite standard therapy, and it was proved by significantly decreased redox-potential NAD/NAD⁺H, by increased cytochromes concentration and by high total anti-oxidative activity.

В основе гипоксических, гипероксических, воспалительных и ряда других патологических процессов лежит нарушение метаболизма кислорода, что приводит к повышенному образованию в тканях его

активных форм — O_2^- , $H_2O_2^-$, OH^- и др., — наслоению окислительного стресса на энергодефицитное состояние тканей и, как следствие, прогрессирование деструктивных процессов. Основным ферментом системы антиоксидантной защиты является супероксиддисмутаза (СОД), активность которой в устранении супероксидного аниона значительно выше, чем у других тканевых антиоксидантов неферментативной природы. Развитие энергетической недостаточности и выраженного окислительного стресса неминуемо ведет к ускорению процессов перекисного окисления структур, поражению мембран, развитию тканевого ацидоза. В связи с этим, в работе поставлена задача изучения взаимосвязи систем энергообразования и антиоксидантной защиты в норме и при гипоксически-ишемических состояниях у новорожденных с целью выявления субклеточно-молекулярных мишеней для разработки рациональных способов адекватной фармакотерапии.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 37 доношенных новорожденных — 13 практически здоровых детей (внутриутробное развитие, рождение и ранний неонатальный период протекали без особенностей) и 24 ребенка, перенесших острую (9) и сочетание острой и хронической (15) гипоксии.

Обследование детей включало в себя общеклиническое, электроэнцефалографическое, электрокардиографическое, а также биохимическое исследование пуповинной крови в момент рождения и периферической крови на 3-и сутки с определением содержания глюкозы, показателей эффективности функционирования системы энергетического обеспечения — содержание никотинамидадениндинуклеотида (НАД, окисленный и восстановленный, редокс потенциал НАД/НАД \cdot H), системы цитохромов митохондриальной цепи окислительного фосфорилирования, перекисного окисления структур — малоновый диальдегид (МДА), общая оксидантная (ООА) и антиоксидантная активность (ОАА), Mn-зависимая — митохондриальная и Cu-Zn-зависимая СОД, каталаза, по методам, описанным в работах [1]. По показаниям проводили общепринятую терапию. Результаты обработаны статистически, достоверность различий средних в зависимых и независимых группах оценивали по критерию t Стьюдента с использованием программ STAT Soft.

Результаты и их обсуждение

В данном исследовании рассматриваются патогенетические механизмы, лежащие в основе первой фазы — острого периода болезни (первые 3 суток), непосредственно связанного с внутриутробной гипоксией и гипоксически-ишемическим состоянием при рождении. В первые 3 суток после рождения интенсивность процессов деструкции особенно велика; наряду с клетками, имеющими необратимые изменения, существуют сохранившиеся, но с разной степенью повреждения нейронов [3]. За короткое время происходит цепь серьезных индуцированных гипоксией событий, имеющих отношение как к прогнозу

заболевания, так и к стратегии терапии. В первые часы после рождения отмечается резкое снижение содержания глюкозы, никотинамидных коферментов, редокс-потенциала крови (отношение НАД/НАД \cdot H), возрастание отношения лактат/пируват и содержания лактата — происходят сдвиг в сторону анаэробного гликолиза, развитие ацидоза. Резкое снижение содержания в крови НАД (на 52%) и суммы пиридиновых нуклеотидов (на 33%, см. таблицу) обуславливает угнетение и анаэробного гликолиза. При снижении содержания НАД и тем более суммы пиридиновых нуклеотидов происходит накопление восстановительных эквивалентов, отношение НАД/НАД \cdot H падает на 36,5%. В более легких случаях отмечается не снижение содержания НАД, а повышение, что отражает вымывание НАД в отсутствие нарушения его синтеза или истощения и может служить маркером благоприятного прогноза при проведении адекватной терапии.

На 3-и сутки при проведении стандартного лечения содержание НАД у таких новорожденных снижается в еще большей степени (на 63%), редокс потенциал НАД/НАД \cdot H — на 43%, а сумма пиридиновых нуклеотидов — на 48%.

Еще более неблагоприятная картина наблюдается в отношении содержания в крови цитохромов — ферментов дыхательной цепи (см. таблицу). При острой гипоксии снижается содержание в крови цитохромов а и с, а при сочетании острой и хронической гипоксии содержание цитохрома с в крови, наоборот, повышается и снижается содержание всех остальных цитохромов цепи окислительного фосфорилирования митохондрий. Интересно, что в отличие от, например, изменений при инфаркте миокарда или мозга у человека [1], в раннем неонатальном периоде у новорожденных, перенесших острую и хроническую гипоксию средней тяжести, происходит снижение содержания в плазме крови цитохрома а и b, тогда как содержание цитохрома с и цитохромоксидазы сохраняется на псевдонормальном или повышенном уровне. Такие изменения в дыхательной цепи митохондрий, а также показанная ранее первичность вымывания цитохрома с [2, 4], по-видимому, свидетельствуют о том, что наблюдаемые нами события относятся к стадии, когда псевдонормальное содержание цитохрома с в плазме крови поддерживается его постоянным вымыванием из миокарда, мозга, лимфоцитов крови — цепь окислительного фосфорилирования не функционирует и, следовательно, не происходит синтеза АТФ по наиболее эффективному пути. Оказалось, что содержание в крови цитохромов прямо коррелирует при гипоксии средней тяжести с активностью Mn-зависимой, но не цитозольной, Cu-Zn-зависимой СОД — как основного фермента, утилизующего с большой скоростью супероксидный анион, неминуемо образующийся в результате невозможности использования кислорода для синтеза АТФ при поражении дыхательной цепи митохонд-

Таблица

Показатели активности системы энергетического обеспечения
и системы антиоксидантной защиты крови новорожденных
при острой и хронической гипоксии и их сочетании

Показатели	Группы обследованных детей		
	Практически здоровые	Перенесшие гипоксию	
		острая	острая + хроническая
Глюкоза, ммоль/л	$1,86 \pm 0,25^*$	$0,98 \pm 0,21^{1)}$	$1,18 \pm 0,12^{1)}$
	$1,93 \pm 0,22$	$1,78 \pm 0,13$	$1,9 \pm 0,3^{3)}$
Лактат, ммоль/л	$1,86 \pm 0,35$	$4,08 \pm 0,35^{1)}$	$3,18 \pm 0,22^{1), 3)}$
	$2,13 \pm 0,25$	$3,45 \pm 0,25^{2)}$	$3,05 \pm 0,15^{1)}$
Пируват, мкмоль/л	$11,9 \pm 2,4$	$7,1 \pm 0,2^{1)}$	$9,5 \pm 1,5^{1), 3)}$
	$13,8 \pm 2,1$	$3,05 \pm 0,35^{2)}$	$6,9 \pm 1,1^{1), 3), 4)}$
Лактат/пируват	155 ± 43	$583 \pm 41^{1)}$	$335 \pm 34^{1), 3)}$
	154 ± 31	$1131 \pm 134^{1), 2)}$	$442 \pm 41^{1), 3), 4)}$
НАД, нмоль/мл	$12,9 \pm 2,3$	$5,25 \pm 0,35^{1)}$	$6,25 \pm 1,55^{1), 4)}$
	$15,8 \pm 2,2$	$7,9 \pm 0,8^{2)}$	$5,9 \pm 0,8^{1), 3), 4)}$
НАД+НАД-Н, нмоль/мл	$37,5 \pm 3,4$	$15,2 \pm 1,5^{1)}$	$25,2 \pm 2,5^{1), 3)}$
	$42,1 \pm 2,2$	$25,9 \pm 2,3^{2), 3)}$	$21,9 \pm 2,3^{2), 3), 4)}$
НАД/НАД-Н	$0,52 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,03^{1)}$	$0,33 \pm 0,04^{2)}$
	$0,61 \pm 0,06$	$0,35 \pm 0,05^{1), 2)}$	$0,35 \pm 0,05^{1), 2)}$
Цитохром а, нмоль/мл	$0,53 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,08^{1)}$	$0,34 \pm 0,06^{1), 2)}$
	$0,55 \pm 0,10$	$0,39 \pm 0,04^{1), 2)}$	$0,50 \pm 0,04^{2), 3), 4)}$
Цитохром в, нмоль/мл	$0,57 \pm 0,14$	$0,57 \pm 0,09$	$0,37 \pm 0,04^{1)}$
	$0,56 \pm 0,11$	$0,22 \pm 0,05^{1), 2), 3)}$	$0,39 \pm 0,03^{1), 2), 3), 4)}$
Цитохром с, нмоль/мл	$0,63 \pm 0,15$	$0,27 \pm 0,06^{1), 2)}$	$0,69 \pm 0,05^{3)}$
	$0,62 \pm 0,10$	$0,23 \pm 0,09^{1), 2)}$	$0,39 \pm 0,04^{2), 4)}$
Цитохромоксидаза, нмоль/мл	$0,43 \pm 0,10$	$0,25 \pm 0,08^{1)}$	$0,49 \pm 0,04^{1), 3)}$
	$0,69 \pm 0,10$	$0,36 \pm 0,06^{2)}$	$0,49 \pm 0,05^{2), 4)}$
Общая оксидантная активность, %	$13,9 \pm 3,3$	$38 \pm 5^{1)}$	$25 \pm 4^{1)}$
	$8,8 \pm 2,6^{1)}$	$33 \pm 2^{2)}$	$36 \pm 3^{2), 3)}$
Общая антиоксидантная активность, %	35 ± 3	$43 \pm 2^{1)}$	$31 \pm 2^{3)}$
	$35 \pm 3^{1)}$	$26 \pm 22^{1), 3)}$	$29 \pm 2^{1), 3)}$
ОАО / ООА	$2,55 \pm 0,25$	$1,15 \pm 0,25^{1)}$	$1,24 \pm 0,15^{1)}$
	$2,8 \pm 0,3$	$0,76 \pm 0,21^{2)}$	$0,78 \pm 0,17^{2), 3)}$
Cu-Zn-СОД, усл. ед.	95 ± 3	$90 \pm 2^{1)}$	$46 \pm 2^{1), 2)}$
	$75 \pm 3^{1)}$	$46 \pm 2^{3)}$	$39 \pm 2^{1), 2), 3), 4)}$
Mn-СОД, усл. ед.	$30,6 \pm 2,7$	$31,9 \pm 1,6$	$15,3 \pm 1,5^{1), 2)}$
	$23,8 \pm 2,5^{1), 3)}$	$17,4 \pm 2,1^{3)}$	$14,3 \pm 2,0^{1)}$
Каталаза, усл. ед.	12 ± 2	15 ± 2	$4 \pm 2^{1), 2)}$
	$7,4 \pm 1,1^{3)}$	$8,6 \pm 0,8^{3)}$	$3,6 \pm 0,8^{1)}$
МДА, нмоль/мл	$0,68 \pm 0,07$	$0,92 \pm 0,05^{1)}$	$0,84 \pm 0,04^{1)}$
	$0,50 \pm 0,06^{1)}$	$0,37 \pm 0,02^{2)}$	$0,67 \pm 0,08^{2), 4)}$

*В числителе – изученные показатели при исследовании пуповинной крови, в знаменателе – при исследовании периферической венозной крови на 3-и сутки жизни; достоверность различия: ¹⁾при сравнении со здоровыми детьми при рождении, ²⁾при сравнении со здоровыми детьми на 3-и сутки жизни, ^{3), 4)}при сравнении с детьми, перенесшими острую гипоксию при рождении и на 3-и сутки соответственно.

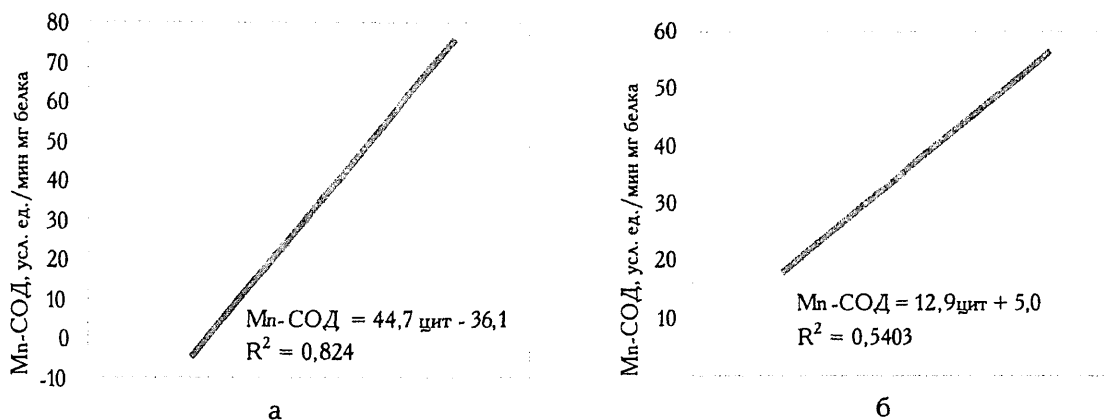


Рис. 1. Взаимосвязи между активностью митохондриальной Mn-зависимой СОД и содержанием цитохромов в дыхательной цепи митохондрий в пуповинной крови у здоровых новорожденных при рождении (а) и в периферической крови на 3-й день жизни (б).

Здесь и на рис. 2 и 3: приводится уравнение зависимости между указанными показателями, имеющее силу при $R^2 > 0,36$ ($p < 0,05$).

рий. Установлено, что между активностью Mn-зависимой СОД и суммарным содержанием цитохромов а, b, с в крови практически здоровых новорожденных существует тесная прямая корреляционная взаимосвязь — $r = 0,91$; $p < 0,0001$ и $r = 0,74$; $p < 0,01$ в пуповинной и периферической крови соответственно (рис. 1). При острой и при сочетании острой и хронической гипоксии эта зависимость полностью исчезает ($r = 0,15$; $r = 0,09$; $r = 0,49$; $r = 0,185$; $p > 0,05$ во всех случаях) (рис. 2 и 3).

Проводимая при этом гипероксигенация лишь способствует прогрессированию окислительного стресса, что и регистрируется в виде резкого повышения общей оксидантной активности крови на 3-и сутки после рождения. В пуповинной крови новорожден-

ных, перенесших острую гипоксию при рождении, общая оксидантная активность в 3 раза превышает уровень у практически здоровых детей, а в периферической крови после проведения гипероксигенотерапии на 3-и сутки превышает уровень общей оксидантной активности практически здоровых новорожденных почти в 4 раза. При этом, в отличие от первых часов жизни, содержание цитохрома с в крови снижается — нарушается его синтез, истощаются резервные возможности дыхательных цепей митохондрий (на каждую дыхательную цепь приходится две цепочки цитохромов, вторая, по-видимому, запасная имеет большое значение в процессах адаптации к гипоксии). Активность каталазы, которая повышается при острой гипоксии в пуповинной

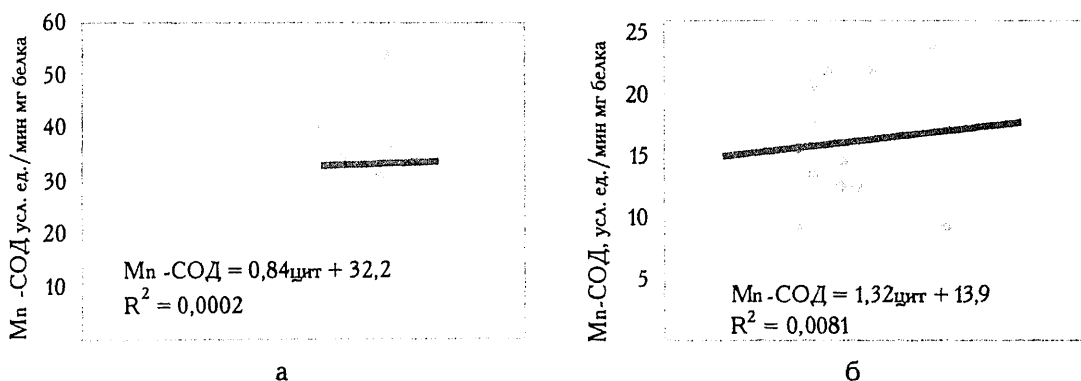


Рис. 2. Взаимосвязи между активностью митохондриальной Mn-зависимой СОД и содержанием цитохромов в дыхательной цепи митохондрий в пуповинной крови при рождении (а) и в периферической крови на 3-й день жизни (б) у новорожденных, перенесших острую гипоксию.

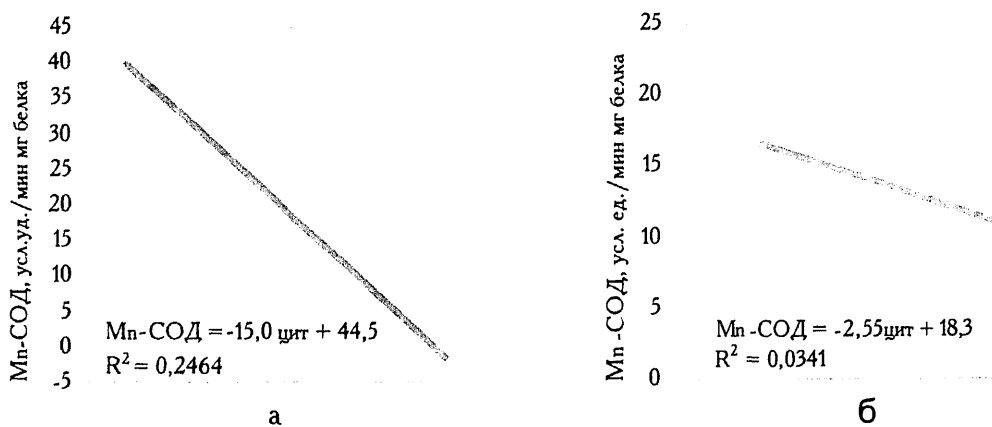


Рис. 3. Взаимосвязи между активностью митохондриальной Mn-зависимой СОД и содержанием цитохромов в дыхательной цепи митохондрий в пуповинной крови при рождении (а) и в периферической крови на 3-й день жизни (б) у новорожденных, перенесших сочетанную острую и хроническую гипоксию.

крови, также снижается на 3-и сутки в периферической крови до уровня, наблюдаемого у практически здоровых новорожденных. При сочетании острой и хронической гипоксии активность каталазы в пуповинной крови, в отличие от острой гипоксии, снижается в 3 раза относительно контроля и остается сниженной на 3-и сутки (см. таблицу). Полученные результаты указывают на то, что система антиоксидантной защиты не справляется с нейтрализацией образующихся активных форм кислорода, что ведет к вторичному мощному поражению клеточных мембран и структур, наложению постгипоксических изменений и влияния окислительного стресса. И по клиническим данным, и по результатам биохимического исследования в течение первых 72 ч жизни новорожденных с гипоксическими ишемическими состояниями к первичным нарушениям присоединяются вторичные повреждения, в которых наложение постгипоксических повреждений и влияния окислительного стресса играют ведущую роль в персистировании патологического процесса.

В течение многих лет господствовало представление о том, что недостаток кислорода является основным фактором повреждения и деструкции нервных клеток, кардиомиоцитов и других клеток. Полученные данные указывают, что и перенасыщение крови кислородом в условиях нарушения систем его утили-

зации также является непосредственным повреждающим фактором и способствует накоплению цитотоксических аминокислот и производных свободных радикалов. Свободные кислородные радикалы, накапливающиеся при гипоксии, являются чрезвычайно реактивными веществами и атакуют мембранные структуры (клеточные мембраны и митохондрии), вызывая повреждения нервных клеток. Патогенетическая терапия в первые 3 суток новорожденных с гипоксией должна быть направлена на предотвращение прогрессирования оксидативного стресса и устранение энергодифицитного состояния организма, принимающих непосредственное участие в формировании ишемии мозга, миокарда и других тканей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Андридзе, Отаришвили Н. О., Сукоян Г. В. и др. // Росс. мед. вестн. — 2001. — № 2. — С. 31–42.
2. Манойлов С. Е. Лечебные препараты из крови и тканей. — М., 1974. — С. 122–124.
3. Прахов А. В. // Педиатрия. — 1998. — № 5. — С. 38–42.
4. Nicholson D. W., Neupert W. // Proc. Nation. Acad. Sci. USA. — 1989. — Vol. 86. — P. 4340–4344.