

УДК 615.099.214:616.092:612.26-015.1

DOI: 10.22141/2224-0586.6.85.2017.111604

Лисенко В.Й.

Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

Харківська міська клінічна лікарня № 2 ім. О.О. Шалімова, м. Харків, Україна

Порушення тканинного дихання та активності мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів при гострих отруєннях нейротропними речовинами

Резюме. Проведено дослідження тканинного дихання та активності мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів при гострих тяжких отруєннях нейротропними речовинами в токсикогенну стадію. Показана роль тканинної гіпоксії в активації мітохондріальних ферментів, переважно сукцинатдегідрогенази, в перші 6 годин із поступовим їх виснаженням при неефективній корекції токсикогіпоксичних станів. З позиції нових даних зроблена спроба розглядати таку перебудову як одну з адаптаційних метаболічних реакцій при тканинній гіпоксії.

Ключові слова: гіпоксія; тканинне дихання; мітохондріальні дегідрогенази; отруєння нейротропними речовинами; метаболічна адаптація

Вступ

Понад 60 % госпіталізованих у токсикологічні стаціонари становлять хворі з гострими отруєннями нейротропними речовинами, переважно з пригнічуючою дією на центральну нервову систему (ЦНС) при середній лікарняній летальності 4,8 % [4, 8]. Через значне їх поширення загальна кількість померлих є вражаючою. Такі екстремальні стани, як шок, кома, колапс, гіпоксія, є крайнім проявом токсичності та майже у 65 % випадків є причиною смерті вже в першу добу гострих отруєнь внаслідок гіпоксичних і метаболічних ускладнень [8, 12]. В основі токсичного дисгомеостазу лежать порушення фізіологічних функцій різних біохімічних структур (рецепторів, ферментів, біомембран), які призводять до первинних порушень багатьох метаболічних шляхів у цитоплазмі та мітохондріях, ініціюють комплекс патологічних змін клітинних структур практично одночасно з надходженням в організм отрути [2, 3, 5, 8, 15]. Важливою ланкою патогенезу цих порушень є гіперперфузія тканин, дисбаланс між доставкою та споживанням кисню, дизоксія [1, 5, 7], ступінь якої в кінцевому підсумку визначає порушення клітинного метаболізму та тяжкість стану

в токсикогенну стадію отруєнь. Складність цього процесу пояснює причину того, що дотепер залишаються невирішеними численні патогенетичні аспекти проблеми, а також питання, пов'язані з антигіпоксичним захистом організму, можливо, через розходження між часом біологічного та клінічного розвитку симптомів. Встановлення закономірностей порушень клітинного енергодефіциту дозволить проводити своєчасне відновлення енергокисневого забезпечення та оптимізувати тканинну утилізацію кисню та субстратів окиснення для збереження життя в екстремальних станах, а отже, є надто актуальним [5, 7, 10, 13].

Метою роботи є дослідження особливостей розвитку метаболічних порушень при токсикогіпоксичних станах, зумовлених гострими тяжкими отруєннями нейротропними препаратами.

Матеріали та методи

Проведено дослідження метаболічного компоненту кисневого режиму (n = 28) та активності мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів (n = 21) у хворих у токсикогенний період гострих тяжких отруєнь психолептиками. В усіх обстежених був

пероральний шлях надходження критичного рівня отрути, переважно комбінованого (барбітурати + анксиолітики та седативно-снودійні). Час експозиції токсичних доз препаратів у середньому становив 8 годин. У групу досліджуваних не входили хворі з патологією серцево-легеневої системи та ЦНС.

Параметри центральної гемодинаміки досліджували методом тетраполярної імпедансної реографії за Кубічком, об'ємний уміст кисню в артеріальній (CaO_2) та змішаній венозній крові (CvO_2) визначали манометричним способом на апараті Ван-Слайка, кислотно-лужний стан — на мікроаналізаторі «Корнінг-166». На підставі отриманих даних за загальноприйнятими формулами розраховували показники, що характеризують кисневий режим, у тому числі його метаболічний компонент: артеріовенозну різницю за O_2 (ABPO_2), індекс споживання кисню (IspO_2), коефіцієнт утилізації кисню (KYO_2), інтенсивність основного обміну (ІОО). Всі показники доставки та споживання кисню визначали в динаміці через 6 годин. Лімфоцит — клітина з аеробним типом обміну, а інтенсивність енергетичних процесів відзеркалює активність сукцинатдегідрогенази (СДГ), ключового ферменту циклу Кребса, та мітохондріальної альфа-гліцерофосфатдегідрогенази (α -ГФДГ) — одного з двох ферментів альфагліцерофосфатного шунта. СДГ — мітохондріальний фермент, який каталізує в циклі Кребса перетворення янтарної кислоти в фумарову і дає уявлення про енергетичний обмін у клітині. Визначення активності ферментів проводили мікроскопічно в мазку периферичної крові після проведення ензиматичної проводки. Підраховували кількість гранул ензимів, утворених внаслідок цитохімічних реакцій у вигляді фіолетових включень формазану (продукту реакції), розміщених по всій поверхні клітини в 50 лімфоцитах (на двох різних мазках, для СДГ і для α -ГФДГ). Активність ферменту виражалась середньою на одну клітину величиною активності. Беручи до уваги спряженість дії, з метою більшої інформативності зміни активності ферментів розраховували як відношення активності α -ГФДГ, СДГ і СДГ з акти-

ватором (ізоцитратом) до СДГ [6, 14]. Отримані дані оброблені статистично з визначенням t-критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

Метаболічний компонент транспорту кисню в обстежених хворих у критичних станах при надходженні характеризувався зниженням KYO_2 , який коливався в межах від 14 до 25 % при належній його величині 27–32 %, та ABPO_2 на 35 % порівняно з належними величинами. Індекс споживання кисню виявився зниженим на $56,0 \pm 5,6$ %. Слід відзначити, що вміст кисню у венозній крові та насиченість гемоглобіну в обстежених вірогідно не відрізнялись від належних величин ($p > 0,05$), незважаючи на значне зменшення споживання кисню тканинами. Цікаво, що відновлення центральної гемодинаміки в процесі інтенсивної терапії довгий час не супроводжується нормалізацією KYO_2 та IspO_2 і лише через добу показники наблизились до нормальних значень ($p > 0,05$), що вказує на пригнічене тканинне дихання. ІОО в перші 12 годин виявилась зниженою до 45–56 % від належного і, незважаючи на поступове підвищення, через добу не досягла нормальних значень (табл. 1).

Динаміка показників метаболічного компонента кисневого режиму при токсикогіпоксичних станах, зумовлених гострими тяжкими отруєннями психолептиками, свідчить про значне пригнічення інтенсивності аеробного клітинного метаболізму та розвиток утилізаційного гіпоергозу. Очевидно, наслідком гіпобіотичного стану організму в обстежених хворих є порушення внутрішньоклітинних регуляторних систем, які формують біологічний потенціал організму. Токсичні дози нейротропних препаратів при тривалій експозиції загрожують біологічній цілісності організму, що також підтверджується розвитком декомпенсованого метаболічного ацидозу зі зниженням в артеріальній крові рН до $7,209 \pm 0,015$, HCO_3 до $17,2 \pm 1,2$ ммоль/л, TCO_2 до $18,3 \pm 0,7$ ммоль/л і ВЕ — до $9,3 \pm 0,8$ ммоль/л.

Таблиця 1. Динаміка показників метаболічного компонента кисневого режиму при гострих тяжких отруєннях нейротропними речовинами

Показник	Належні	Вихідні	Через 6 год	Через 12 год	Через 24 год
ABPO_2 , мл/л	$50,00 \pm 0,98$	$32,5 \pm 2,7^*$	$37,2 \pm 3,3^*$	$33,1 \pm 2,8^*$	$42,8 \pm 5,0^{**}$
IspO_2 , мл/хв/м ²	$160,00 \pm 5,78$	$70,5 \pm 8,9^*$	$86,9 \pm 12,3^*$	$100,5 \pm 13,7^*$	$121,2 \pm 9,3^{**}$
KYO_2 , %	$29,0 \pm 0,5$	$21,0 \pm 2,0^*$	$23,7 \pm 2,6^*$	$20,7 \pm 1,6^*$	$27,6 \pm 2,8^{**}$
CvO_2 , мл/л	$125,00 \pm 3,54$	$113,5 \pm 8,8$	$112,6 \pm 6,1$	$121,9 \pm 5,2$	$114,3 \pm 6,6$
SvO_2 , %	$74,00 \pm 1,34$	$66,9 \pm 3,9$	$62,6 \pm 3,1^*$	$63,7 \pm 2,3^*$	$63,8 \pm 3,6^*$
ITEO_2 , %	$40,00 \pm 2,78$	$28,4 \pm 2,7^*$	$32,3 \pm 3,8^*$	$25,6 \pm 2,8^{**}$	$33,6 \pm 5,7$
ІОО, ккал/м ²	$1120,00 \pm 40,46$	$493,5 \pm 62,3^*$	$608,3 \pm 86,1^*$	$703,5 \pm 95,9^*$	$848,4 \pm 65,1^*$

Примітки: * — $p < 0,05$ з належними показниками; ** — між показниками через 12 і 24 години; ABPO_2 — артеріовенозна різниця за киснем; IspO_2 — індекс споживання кисню; KYO_2 — коефіцієнт утилізації кисню; CvO_2 — об'ємний уміст кисню у змішаній венозній крові; SvO_2 — венозна сатурація кисню; ITEO_2 — індекс тканинної екстракції кисню; ІОО — інтенсивність основного обміну.

Важливе значення має стан окисно-відновних процесів у період гострої хімічної хвороби у визначенні спрямованості компенсаторних метаболічних реакцій при формуванні адаптаційної перебудови. Отримані дані про активність мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів у перші години токсикогенного періоду гострих отруєнь психолептиками вказують на метаболічну перебудову, спрямовану, в основному, на активацію енергетичного обміну при токсичному стресі (табл. 2). Вірогідна активація ферменту СДГ при надходженні вказує на переважне окислення сукцинату перед альфа-гліцерофосфатом. У той же час виявляється вірогідне посилення активності альфа-ГДФГ, що спостерігається при необхідності швидкої мобілізації енергетичних ресурсів. Виявлено також вірогідне підвищення відношення цих ферментів, що вказує на напруження механізмів енергопродукції і перебудову аеробного та анаеробного обміну. Можна припустити, що така перебудова зумовлює вмикання швидкого варіанту циклу Кребса, який призводить до прискореного утворен-

ня альфа-кетоглутарату й янтарної кислоти через трансаміназний шунт [6, 11]. Однак продовження цитотоксичної дії отрути та гіпоксії через 12 годин призводить до вірогідного виснаження швидкої мобілізації енергопродукції та неможливості її наробки у зв'язку з можливими ушкодженнями клітинних мембран [6, 7, 14]. Такий енергетичний дисбаланс у мітохондріях призводить до зниження синтезу аденозинтрифосфату (АТФ), посилення генерації активних форм кисню, розвитку окислювального стресу, цитотоксичному ушкодженню мембран, ДНК і, як наслідок, загибелі клітин [6, 13, 14].

При дії гіпоксії включаються маловідомі механізми підтримки кисневого гомеостазу. Так, на думку В.П. Скулачева, в мітохондріях існує спеціальний механізм «м'якого» роз'єднання дихання й окисного фосфорилування, метою якого є збільшення використання кисню в умовах виключення фосфорилуючого дихання. У таких ситуаціях може утворюватися неспецифічна пара у внутрішній мембрані мітохондрій [9].

Таблиця 2. Показники активності мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів при гострих тяжких отруєннях нейротропними речовинами

Показник	Контроль (n = 24)	Через 6 год	Через 12 год
СДГ	20,89 ± 1,06	34,06 ± 1,78*	24,06 ± 1,91**
α-ГДФГ	12,80 ± 0,61	25,92 ± 1,66*	20,52 ± 0,92**
СДГ + ізоцитрат	20,66 ± 0,97	35,53 ± 1,57*	25,43 ± 1,61**
α-ГДФГ/СДГ	0,61 ± 0,057	0,76 ± 0,16	0,872 ± 0,047**
СДГ + ізоцитрат/СДГ	0,997 ± 0,025	1,034 ± 0,036*	1,126 ± 0,030**

Примітки: * — $p < 0,05$ із контрольними показниками; ** — між показниками через 6 і 12 годин; СДГ — сукцинатдегідрогеназа; α-ГДФГ — альфа-гліцерофосфатдегідрогеназа.

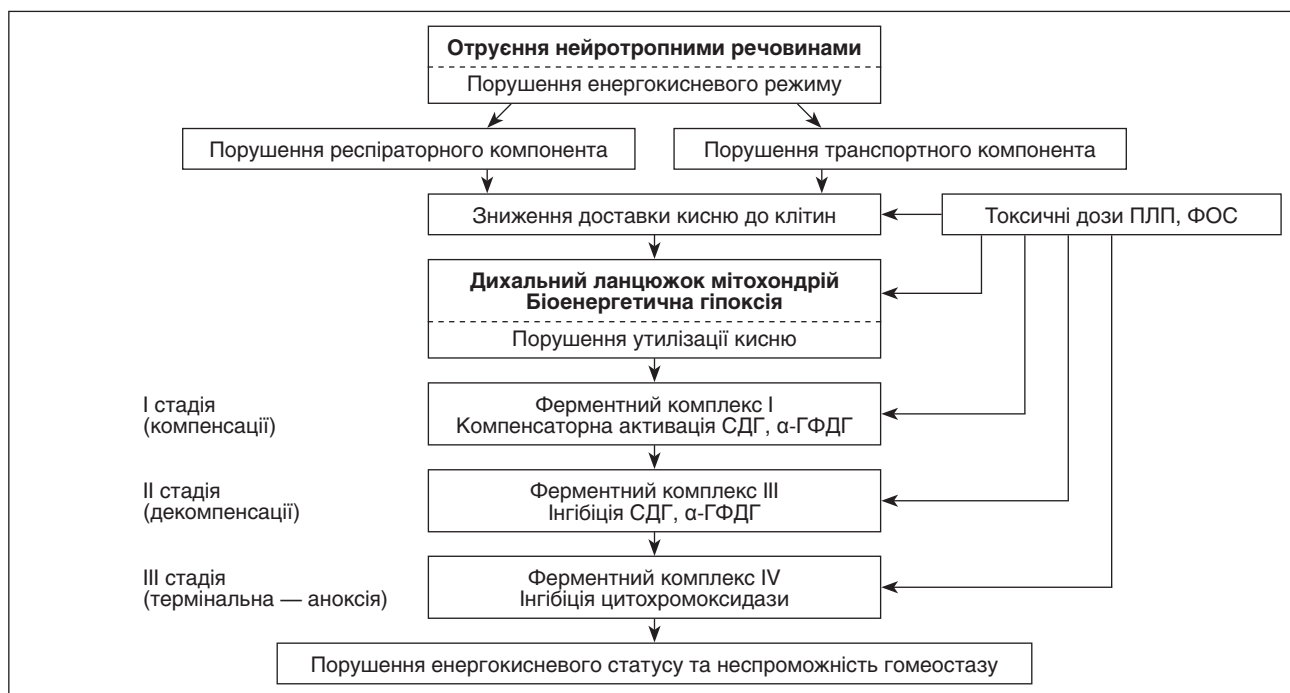


Рисунок 1. Схема патогенезу біоенергетичної дисфункції — недостатності при тяжких отруєннях нейротропними речовинами (модифікована схема Лук'янової Л.Д., 1997)

Цей процес ініціюється активними формами кисню [6, 14] і призводить до максимальної стимуляції мітохондріального дихання, повного зникнення градієнта електрохімічного потенціалу протонів і вільного обміну низькомолекулярними метаболітами між мітохондрією та цитозолем. Мітохондрія поглинає кисень і «спалює» субстрати, що легко проникають через пору й окислюються цим же дихальним ланцюгом, але без накопичення енергії [9].

Сумарний ефект різних видів гіпоксії призводить до значних токсикогіпоксичних порушень окисно-відновних процесів і біоенергетичної недостатності у хворих із гострими тяжкими отруєннями нейротропними речовинами, схему патогенезу якої представлено на рис. 1.

Клінічна практика все частіше засвідчує, що ефективна корекція гіпоксичних станів досягається шляхом активації окисно-відновних процесів, у тому числі за допомогою відомих антигіпоксантів, які активують обмінні та репаративні процеси в нейронах. Інтенсифікація окисних процесів забезпечує перебудову анаеробного й аеробного енергетичного обміну із включенням трансаміназного циклу окислення субстратів у клітинах. Підтримання редокс-потенціалу сприяє інтеграції спряженості проміжного обміну й ефективності використання недоокислених метаболітів. Особливе значення в перехідний період токсичного стресу має інтенсивність переносу протонів і електронів у дихальному ланцюзі. Проте, при значному зростанні перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) з ознаками деструкції мітохондріальних мембран уведення окремих компонентів дихального ланцюга вже не сприяє інтенсифікації окисних процесів. Відомо, що як гіпоксія, так і гіпероксія призводить до порушень прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та адаптаційних можливостей. Останніми роками погляд на роль вільних радикалів (ВР) суттєво змінюється від патогенної до адаптивної. З одного боку, ВР-форми кисню підсилюють ішемічні ушкодження мембран нейронів, а з іншого — виконують роль нейротрансмітерів та адаптують нейрони до нових умов. Унаслідок залучення у вільнорадикальні та перекисні реакції H_2O утворюється ендogenousний кисень для підтримання рівноваги між надходженням та його потребою для клітин у конкретній метаболічній ситуації [9, 14] і можливість утилізації кінцевих метаболітів ПОЛ в окисно-відновних мітохондріальних реакціях [14]. Значне пригнічення окисного фосфорилування не може забезпечити утилізації накопичених у мітохондріях недоокислених активованих форм жирних кислот ні в оксигеназних, ні в оксидазних процесах. У цей період надзвичайно важливо зрушити рівновагу процесу виробництва АТФ від використання як вихідної сировини жирних кислот (бета-окислення) в бік окислення глюкози (аеробний гліколіз).

Аналіз динаміки порушень компонентів кисневого режиму, інтенсивності метаболізму та ак-

тивності ключових мітохондріальних ферментів лімфоцитів виявив часову послідовність їх розгортання при токсикогіпоксичних станах, зумовлених гострими тяжкими отруєннями психолептиками, що потребує диференційованих методів їх корекції в токсикогенний період.

Висновки

1. Гострі тяжкі отруєння нейротропними препаратами в токсикогенний період супроводжуються розвитком біоенергетичної гіпоксії, головними чинниками якої є низька продуктивність серця, артеріальна гіпоксемія, пригнічення ключових мітохондріальних дегідрогеназ і порушення тканинної утилізації кисню.

2. Токсикогіпоксичний стан спричиняє часову послідовність розвитку функціонально-метаболічних порушень у клітинах, що розпочинаються вірогідною активацією ключових мітохондріальних дегідрогеназ лімфоцитів в перші 6–12 годин, а продовження та/або посилення тяжкості стану призводить до вірогідного зниження (на 51 %) активності мітохондріально-ферментного комплексу циклу Кребса на етапах адаптаційної структурно-метаболічної перебудови.

3. Перфузійно-екстрактивні показники (ITO_2 , $IspO_2$, KUO_2) є основними критеріями у визначенні спрямованості та формуванні метаболічної адаптації.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Беленичев И.Ф., Черный В.И. и др. *Нейропротекция и нейропластичность*. — К.: Логос, 2015. — 312 с.
2. Глушков С.И., Куценко С.А., Ливанов Г.А. и др. *Состояние глутатионзависимой антирадикальной системы и процессов перекисного окисления липидов в различных тканях лабораторных животных при острых отравлениях тиопенталом натрия* // Токсикол. вестник. — 2002. — № 1. — С. 11-16.
3. Губский Ю.И. *Токсическая гибель клетки: свободно-радикальное повреждение ДНК и апоптоз* // Лікування та діагностика. — 2001. — № 4. — С. 8-13.
4. Жданова М.П., Шлапак І.П., Шейман Б.С. *Гострі отруєння: актуальність і сучасний стан в Україні* // Тези доповідей науково-практичної конференції «Організація токсикологічної допомоги в Україні», Товариство токсикологів України. — К., 2002. — С. 45-46.
5. Ливанов Г.А., Мороз В.В., Батоцьренев Б.В., Лодягин А.Н., Андрианов А.Ю., Базарова В.Г. *Пути фармакологической коррекции последствий гипоксии при критических состояниях у больных с острыми отравлениями* // Анестезиология и реаниматология. — 2003. — № 2. — С. 51-54.
6. Лукьянова Л.Д. *Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции* // Патол. физиол. и экспер. терапия. — 2011. — № 1. — С. 3-19.

7. Лысенко В.И. Механизмы метаболического дисгомеостаза при токсикогипоксических комах // Проблемы токсикологии лекарственных средств и клинической токсикологии. — 2011. — № 5(55). — С. 136-137.

8. Остапенко Ю.Н. Отравления аварийно химически опасными веществами // Медицинская токсикология: национальное руководство / Под ред. Е.А. Лужникова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — С. 669-684.

9. Скулачев В.П. Снижение внутриклеточной концентрации кислорода как особая функция дыхательной системы клетки // Биохимия. — 1994. — Т. 59, вып. 12. — С. 1910-1912.

10. Черный В.И., Андропова И.А., Городник Г.А., Черный Т.В., Назаренко К.В., Андропова М.А. Исследование ЭЭГ-предикторов нейромедиаторной и нейроглиальной активности у больных с острой церебральной недостаточностью различного генеза // Медицина неотложных состояний. — 2016. — № 4(75). — С. 45-56.

11. Lin A.P., Anderson S.L., Minard K.Y., McAllister-Hen L. Effects of excess succinate and retrograde control of metabolite accumulation in yeast tricarboxylic cycle mutants // J. Biol. Chem. — 2011. — Vol. 286(39). — P. 33737-33746.

12. Mazuda N., Takatsu M., Monaci H., Ozawa T. Sarin poisoning in Tokyo subway // Lancet. — 1995. — № 8962. — P. 1446-1447.

13. Okamoto K. Permissive hypoxemia: another strategy // Journal of the Japanese Society of Intensive Care Medicine. — 2016. — Vol. 23, № 2. — P. 113-116.

14. Tymochko M.F., Aleksevich Ja.I., Bobkov Ju.G., Kovalenko E.A. (1996) Oxygen balance under extreme conditions // Hypoxia Medical J. — Vol. 3. — P. 8-12.

15. Wink D.A., Mitchell G.B. Mitochondria control of apoptosis: the role of cytochrome c // Free Radic. Biol. Med. — 1998. — Vol. 25. — P. 434-456.

Отримано 15.06.2017 ■

Лысенко В.И.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина
Харьковская городская клиническая больница № 2 им. А.А. Шалимова, г. Харьков, Украина

Нарушения тканевого дыхания и активности митохондриальных дегидрогеназ лимфоцитов при острых отравлениях нейротропными веществами

Резюме. Проведено исследование тканевого дыхания и активности митохондриальных дегидрогеназ лимфоцитов при острых тяжелых отравлениях психолептиками в токсикогенную стадию. Показана роль тканевой гипоксии в активации митохондриальных ферментов, преимущественно сукцинатдегидрогеназы, в первые 6 часов с последующим их истощением при неэффективной коррек-

ции токсикогипоксического состояния. С позиции новых данных сделана попытка рассматривать эту перестройку как одну из адаптационных метаболических реакций при тканевой гипоксии.

Ключевые слова: гипоксия; митохондриальные дегидрогеназы; острые отравления нейротропными веществами; метаболическая адаптация

V.I. Lysenko

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine
O.O. Shalimov Kharkiv Municipal Clinical Hospital N 2, Kharkiv, Ukraine

Disturbances of tissue respiration and mitochondrial lymphocyte dehydrogenase activity in acute poisoning by neurotropic substances

Abstract. The study of tissue metabolism (28 patients) and mitochondrial dehydrogenase activity of the lymphocytes (21 patients) in acute neurotropic poisoning in the early period was conducted. The role of tissue hypoxia in the activation of mitochondrial enzymes, mainly succinate dehydrogenase, during the first 6 hours with their following exhaustion in case of

ineffective correction of toxicohypoxic states was reported. There was made an attempt to consider these changes as one of the adapted metabolic reactions in tissue hypoxia from the standpoint of new data.

Keywords: hypoxia; tissue respiration; mitochondrial dehydrogenases; neurotropic poisoning; metabolic adaptation