

РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЙНИХ ТА НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ РОБІТ RESULTS THESIS AND SCIENTIFIC-RESEARCH

УДК 616.831-001.8-005.4-053.31-008.83-074-

078:577.122.3:577.27

DOI: 10.24061/2413-4260.VII.3.25.2017.1

Г.О. Яновська, О.Я. Гречаніна,
Ю.Б. Гречаніна

Харківський національний медичний університет
МОЗ України
(м. Харків, Україна)

АМІНОКИСЛОТИ КРОВІ ТА ОРГАНІЧНІ
КИСЛОТИ СЕЧІ У ВИЗНАЧЕННІ
МЕТАБОЛІЧНОГО СТАТУСУ
ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМУ
ГІПОКСИЧНО-ІШЕМІЧНОМУ
УРАЖЕННІ

Резюме. Гіпоксично-ішемічні ураження (ГІУ) головного мозку є частою причиною інвалідизації та дезадаптації дітей. Роль і взаємодія метаболічних шляхів у механізмах їх розвитку ясні ще не до кінця.

Мета роботи: вивчити зміни рівнів амінокислот (АК) крові та органічних кислот (ОК) сечі при перинатальному гіпоксично-ішемічному ураженні головного мозку.

Матеріали та методи: обстежено 117 новонароджених з ГІУ (із них 60 в гострому періоді - у віці до 1 місяця, і 57 в ранньому відновному періоді - у віці 1 - 4 місяці), та 35 відносно здорових новонароджених. Всім дітям проведено дослідження вільних АК крові методом вискоєфективної рідинної хроматографії. У 98 дітей з ГІУ визначені ОК сечі методом газової хроматографії – мас-спектрометрії.

Результати. Аналіз амінокислот крові виявив: в гострому періоді ГІУ - підвищення рівнів АК, які є медіаторами (глутамат, $p = 0,001$, гліцин, $p = 0,038$), а також метіоніну ($p = 0,015$) і АК, що залучені до енергетичного метаболізму та підтримці постійного рівню глюкози крові: аланін ($p = 0,001$), треонін ($p = 0,028$), валін ($p = 0,01$), лейцин ($p = 0,021$); зниження рівнів триптофану ($p = 0,0001$) і тирозину ($p = 0,015$), які є попередниками нейромедіаторів. У ранньому відновному періоді ГІУ більш часто відмічались зміни АК циклу сечовини, зниження валіну. При аналізі ОК сечі найчастіше зміненими були метаболіти циклу Кребса та дихального ланцюга (більш ніж 70% випадків), а також метаболіти АК з розгалуженим ланцюгом (більше за 60% випадків), що залучені до енергетичного та вуглеводного метаболізму. Виявлені кореляції між змінами рівнів ОК в сечі та АК в крові.

Висновки. Аналіз АК крові після перинатальної гіпоксії-ішемії виявив найбільш часті зміни рівнів АК, залучених до енергетичного, нейротрансмітерного метаболізму, детоксикації аміаку. Серед ОК сечі найчастіше були змінені метаболіти циклу Кребса та АК, залучених до енергетичного метаболізму. Робота демонструє наявність кореляцій між АК крові та ОК сечі, доцільність їх дослідження для оцінки метаболічного статусу після перинатальної гіпоксії.

Ключові слова. Перинатальний, гіпоксично-ішемічне ураження, амінокислоти, органічні кислоти.

Вступ

Перинатальні ураження головного мозку є глобальною проблемою охорони здоров'я; їх наслідки часто стають причиною інвалідизації та дезадаптації дітей. [1] Частота гіпоксично-ішемічного ураження мозку, за даними епідеміологічних досліджень в США, коливається від 2 до 9 на 1000 новонароджених. [2] Роль і взаємодія метаболічних шляхів у патогенезі гіпоксії-ішемії вивчені ще не до кінця, щоб бути основою для адекватної терапії. Провідним у патогенезі ГІУ є перебудження глутаматних NMDA (N-метил-D-аспарат) - рецепторів глутамату, що надмірно вивільняється з синапсів при загибелі нейронів. Це призводить до деполіризації мембрани, збільшує надходження хлоридів і кальцію в клітину, активує процеси протеолізу і апоптозу. [1, 3]

Дослідження останніх років метаболізму мозку після гіпоксії виявили цілий ряд змін: спостерігається тривала депресія метаболізму мітохондрій, порушується синтез нейротрансмітерів в астроцитах. Знижується активність пентозофосфатного шляху окиснення глюкози, що підвищує сприйнятливості мозку новонароджених до окисного стресу. [4] Тривають дослідження ролі амінокислот в процесах, що супроводжують гіпоксію. У гострому періоді ішемії виявлений дисбаланс АК у бік збільшення збуджувачів (аспарагінова і глутамі-

нова) і зменшення гальмівних (гліцин, пролін, таурин). [5] Була доведена нейротрансмітерна роль серину; зв'язуючись з NMDA - рецепторами, він бере участь в механізмах ексайтотоксичності. [6] Доведено нейропротекторні властивості таурину, який в експерименті зменшував обсяг ураження мозку. [7]

Для більш глибокого розуміння процесів, що супроводжують перинатальну гіпоксію, важлива всебічна оцінка метаболічного фону. Були виявлені статистично значущі відмінності органічних кислот (ОК) сечі у новонароджених з гіпоксичним ураженням важкого ступеню. [8] Органічні кислоти – це низкомолекулярні токсичні речовини, що є продуктами обміну АК, вуглеводів, ліпідів та ін. Noto A, Romero G, Mussar M та соавт. вказують на зміни концентрацій метаболітів сечі новонароджених протягом певного часу після гіпоксії-ішемії; ці зміни головним чином обумовлені виснаженням енергії, що може бути «відбитком» перинатальної асфіксії. [9, 10]

Мета роботи: вивчити зміни рівнів амінокислот (АК) крові та органічних кислот (ОК) сечі при гіпоксично-ішемічному ураженні (ГІУ) головного мозку.

Матеріали та методи

Нами обстежено 152 дитини, розділених на дві групи: ОГ - діти з ГІУ, $n = 117$; КГ - діти без ознак

ГІУ, n = 35. У кожній групі виділено дві підгрупи: I - діти у віці до місяця, що відповідає гострому періоду ГІУ (ОГ (I), n = 60, і КГ (I), n = 17), і II - діти у віці від 1 до 4 місяців, або ранній відновний період ГІУ (ОГ (II), n = 57, і КГ (II), n = 18). Всім дітям проводилося комплексне обстеження. Оцінено 23 вільних амінокислот крові: аспарагінова (АСП) і глютамінова кислоти (ГЛУ), аспарагін (АСН), глютамін (ГЛН), серин (СЕР), метіонін (МЕТ), цистин (ЦИС), таурін (ТАУ), гістидин (ГІС), аргінін (АРГ), орнітин (ОРН), цитрулін (ЦИТ), треонін (ТРЕ), аланін (АЛА), триптофан (ТРИ), гліцин (ГЛІ), пролін (ПРО), валін (ВАЛ), ізолейцин (ІЛЕ), лейцин (ЛЕЙ), фенілаланін (ФЕН), тирозин (ТИР), лізин (ЛІЗ) методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на апараті WATERS MODEL 510 HPLC PUMP.

У 98 дітей ОГ також оцінено 42 органічні сполуки сечі методом газової хроматографії - мас-спектрометрії з використанням газового хроматографу 6890N, мас-селективного детектору 5975 CVLMSD, автоінжектору 7683B. Серед ОК оцінювались ті, що переважно віддеркалюють зміни мітохондріального метаболізму (молочна, фумарова, бурштинова, яблучна, лимонна, ізолимонна, оксоглутарова кислоти), метаболіти нейротрансмітерів (гомованілова, ванілманделова, 5-гідроксиіндолацетова кислоти), та група сполук, що утворюються в процесі катаболізму амінокислот; серед них метаболіти АК з розгалуженим ланцюгом (гідроксиізобутірова, еритронілова кислоти, 2-етилгідракрилова, 3-метилглутарова, 3-гідроксиізовалеріанова, 3-метилглутаконова, 3-гідроксиметилглутарова, 3-гідроксиізобутірова кислоти), метаболіти сірковмісних амінокислот та кобаламіну (сульфіти, цистин, метилмалонова кислота, та зниження 5-оксипроліну), також метаболіти ароматичних амінокислот ФЕН і ТИР (2-гідроксифенілоцтова, p-гідроксифенілмолочна, гідроксифенілмолочна, гіппурова кислоти), метаболіти ГЛУ та АСП (N-ацетил-L-аспартанова, аконітова кислоти, та підвищення 5-оксипроліну), ЛІЗ та ТРИ (глутарова, індолацетова, пімелінова кислоти), та маркери

кетозу (3-гідроксибутірова, ацетооцтова, етилмалонова, метилбурштинова кислоти).

Статистична обробка експериментальних даних проведена за допомогою програми статистичного аналізу Statistica 6 з використанням непараметричних методів хі-квадрат і Фішера. Відмінності вважалися значущими при p < 0,05.

Результати та їх обговорення

Середній вік обстежених дітей склав в групі ОГ (I) $17,57 \pm 1,04$ доби, в групі ОГ (II) - $65,5 \pm 2,78$ доби. Стан дітей в гострому періоді ГІУ розцінювався від середнього до дуже важкого. Провідними клініко-неврологічними синдромами у гострому періоді були: синдром пригнічення ЦНС - у 67,7% дітей, судомний синдром - у 51,7%, внутрішньочерепні крововиливи - у 19,7%; 48,3% дітей перенесли набряк головного мозку.

Порівняння змін АК крові у дітей в гострому і ранньому відновному періодах гіпоксичного ураження та групи контролю (табл. 1) виявило наступні зміни: у гострому періоді достовірно частіше були змінені: глютамат (p = 0,001), гліцин (p = 0,038), аланін (p = 0,001), валін (p = 0,01), треонін (p = 0,028) частіше були підвищеними; триптофан - знижений (p = 0,0001); частіше змінювався рівень ізолейцину (p = 0,007). При використанні точного критерію Фішера значущі відмінності виявлені також для амінокислот: аргінін (pFet = 0,011), лізин (pFet = 0,011), метіонін (pFet = 0,015), лейцин (pFet = 0,021), гістидин (pFet = 0,028), тирозин (pFet = 0,015), цистин (pFet = 0,035).

Ці амінокислоти активно залучені до метаболічних процесів, які змінюються в умовах гіпоксії та впливають на функціонування ЦНС. Так, перезбудження надмірним глютаматом NMDA - рецепторів є провідним у патогенезі гіпоксичного ураження. Підвищення рівнів амінокислот-медіаторів під дією гіпоксії - збуджуючого глютамату та гальмівного гліцину - співпадають з даними багатьох дослідників; також були описані зміни рівнів гістидину та цистину, які залучені до роботи антиоксидантних систем. [5].

Таблиця 1

Зміни рівнів амінокислот крові у обстежених дітей

АК	Група А (n = 77)						Група В (n = 75)					
	ОГ (I) n = 60		КГ (I) n = 17		p	pFet	ОГ (II) n = 57		КГ (II) n = 18		p	pFet
	↓	↑	↓	↑			↓	↑	↓	↑		
АСП	5	5	0	0	0,96	0,069	10	4	0	0	0,66	0,014*
ГЛУ	3	20	0	0	0,01*	0,001*	1	21	0	0	0,007*	0,000*
АСН	5	7	0	0	0,133	0,038*	8	5	0	0	0,083	0,019*
ГЛН	1	7	0	0	0,282	0,122	10	15	0	0	0,003*	0,0002*
АЛА	4	26	0	0	0,001*	0,24	2	20	0	0	0,007*	0,030*
СЕР	3	3	0	0	0,40	0,211	14	3	0	0	0,031*	0,0047*
ГЛІ	0	10	1	0	0,038*	0,006*	1	16	0	1	0,109	0,0007*
ТРЕ	8	16	0	1	0,028*	0,001*	7	13	0	0	0,013*	0,0015*
ПРО	3	2	0	0	0,47	0,000*	3	6	0	0	0,199	0,027*
ГІС	11	2	0	0	0,11	0,021*	24	2	1	0	0,008*	0,038*
АРГ	1	15	0	0	0,057	0,001*	4	11	0	0	0,052	0,072

Продовження таблиці 1

ОРН	0	5	0	0	0,22	0,000*	9	9	0	0	0,024*	0,0015*
ЦИТ	14	1	1	0	0,227	0,015*	17	6	0	0	0,005*	0,098
ТИР	13	2	0	0	0,071	0,276	5	3	0	0	0,243	0,18
ФЕН	1	4	0	0	0,47	0,011*	4	2	0	0	0,357	0,010*
ТРИ	28	6	0	0	0,000*	0,276	20	0	0	0	0,003*	0,0032*
ЛІЗ	1	15	0	0	0,057	0,077	3	22	0	0	0,003*	0,0004*
МЕТ	1	20	0	1	0,63	0,028*	7	11	0	0	0,024*	0,0013*
ЦИС	10	8	1	0	0,113	0,015*	1	3	0	0	0,513	0,0032*
ТАУ	0	4	0	0	0,274	0,035*	1	6	0	0	0,296	0,325
ІЛЕ	13	11	0	0	0,007*	0,360	4	8	0	0	0,105	0,133
ЛЕЙ	3	11	0	0	0,089	0,011*	6	5	0	0	0,131	0,0002*
ВАЛ	5	18	0	0	0,010*	0,276	9	0	0	0	0,072	0,072

Примітка. *- статистично значуща різниця ($p < 0,05$) при порівнянні груп

Інші АК, зміни рівнів яких ми виявили, також залучені до процесів, що супроводжують гіпоксію. АЛА і амінокислоти з розгалуженим ланцюгом (ВАЛ, ІЛЕ) можуть бути залучені до глюконеогенезу і енергетичного обміну: АЛА як складова частина коензиму А, ВАЛ в циклі лимонної кислоти. [11, 12] Метионін є універсальним донором метильних груп в синтезі активних речовин (фосфатидилхолін, катехоламіни та ін.). Окрім того, метионін-ТРНК, ініціюючи процеси трансляції, може впливати на регуляцію метаболічних процесів, що динамічно змінюються під дією гіпоксії. [13] Зниження рівнів ТРИ і ТИР може бути наслідком їх активного використання як субстратів для синтезу нейромедіаторів - серотоніну і дофаміну, а також катехоламінів. [11, 12]

У ранньому відновному періоді достовірно частіше змінювалися рівні глутамату ($p = 0,007$), аланіну ($p = 0,007$), треоніну ($p = 0,013$), лізину ($p = 0,003$), триптофану ($p = 0,003$), гістидину ($p = 0,008$), глутаміну ($p = 0,003$), орнітину ($p = 0,024$), цитруліну ($p = 0,005$), метіоніну ($p = 0,024$) та серину ($p = 0,031$). При використанні точного критерію Фішера статистично значущі відмінності виявлені також для гліцину ($p_{Fet} = 0,030$), аргініну ($p_{Fet} = 0,01$), ізолейцину ($p_{Fet} = 0,027$), аспартату ($p_{Fet} = 0,014$) і аспарагіну ($p_{Fet} = 0,019$).

У порівнянні з гострим, у відновному періоді ГІУ зберігалася підвищення рівнів АК, що задіяні в енергетичному метаболізмі та глюконеогенезі - аланіну та треоніну. Це корелює з даними, які

свідчать, що після гіпоксії спостерігається тривала депресія метаболізму мітохондрій. [4] Ми також виявили більш виражені зміни АК, залучених до детоксикації аміаку: крім аргініну, частіше зміненими були цитрулін, орнітин, глутамін; можливо це відповідь на катаболізм при гіпоксії. Частіше були зниженими АСП і АСН, які задіяні в механізмах ексайтотоксичності, а також, в імунній відповіді й фагоцитозі. Серин залучається до нейропротекції [6], синтезу медіаторів та глутатіону.

Органічні кислоти сечі є кінцевими продуктами багатьох метаболічних шляхів. Дослідження ОК сечі у дітей основної групи (табл. 2) виявило наступні особливості: зміни мітохондріальних метаболітів мали місце у більшості дітей із гіпоксичним ураженням - в гострому періоді у 74%, у ранньому відновному періоді у 77% дітей. У 34,0 % дітей ОГ (I) та 33,4% ОГ (II) змінени метаболіти нейротрансмітерів. Серед метаболітів переважно амінокислотного походження найбільш часто були зміненими метаболіти АК з розгалуженим ланцюгом - у 62,0% дітей ОГ (I) та 67,5% ОГ (II); метаболіти ФЕН, ТИР змінени в 50,0 % ОГ(I) та 41,7 % ОГ(II). Метаболіти інших амінокислот частіше були змінени у дітей віком 1 - 4 місяці: метаболіти ГЛУ, АСП - в 36 % випадках ОГ (I) та 58,8 % випадках ОГ (II), метаболіти сірковмісних амінокислот та кобаламіну - у 26 % ОГ(I) та 43,8 % ОГ(II), метаболіти ЛІЗ та ТРИ - у 32 % та 45,8 % ОГ(I) та ОГ(II) відповідно. Ознаки кетозу мали місце у 28% дітей ОГ (I) та 42,7 % ОГ (II).

Таблиця 2

Зміни органічних сполук сечі у дітей з ГІУ

Органічні сполуки сечі, оцінені метаболіти	Змінено показників у групах			
	ОГ (I), n = 50		ОГ (II), n = 48	
	Абс.	%	Абс.	%
Мітохондріальні – 7 метаболітів, із них:	37	74	37	77
Змінени 1-3 метаболіти	25	50	33	68,7
Змінени 4 і більше метаболітів	12	24	4	8,3
Нейротрансмітерів – 3 метаболіти, із них:	17	34	16	33,4
Змінений 1 метаболіт	7	14	13	27,1
Змінени 2-3 метаболіти	10	20	3	6,3
ІЛЕ, ЛЕЙ, ВАЛ – 8 метаболітів, із них:	31	62	31	67,5
Змінени 1-3 метаболіти	25	50	25	52
Змінени 4 і більше метаболіти	6	12	6	12,5

Продовження таблиці 2

ФЕН, ТИР – 4 метаболіти, із них:	25	50	20	41,7
Змінені 1 - 2 метаболіти	23	46	18	37,5
Змінені 3 - 4 метаболіти	2	4	2	4,2
ГЛУ, АСП – 3 метаболіти, із них:	18	36	18	58,8
Змінений 1 метаболіт	15	30	18	37,5
Змінено 2 - 3 метаболіти	3	6	10	21,3
МЕТ, ЦИС, В12 – 4 метаболіти, із них:	13	26	21	43,8
Змінений 1 метаболіт	12	24	18	37,5
Змінені 2 і більше метаболіти	1	2	3	6,3
ЛІЗ, ТРИ – 3 метаболіти, із них:	16	32	22	45,8
Змінений 1 метаболіт	13	26	17	35,4
Змінені 2 - 3 метаболіти	3	6	5	10,4
Кетоз – 4 метаболіти, із них:	14	28	21	42,7
Змінені 1 - 2 метаболіти	10	20	20	41,6
Змінені 3 - 4 метаболіти	4	8	1	2,1

Ми дослідили наявність кореляцій між змінами рівнів органічних сполук в сечі та амінокислот у крові (табл. 3).

Виявлені зв'язки є відображенням шляхів катаболізму АК та їх перехрещення з іншими ланками обміну.

Таблиця 3

Амінокислоти крові, для яких виявлена сполученість із змінами ОК сечі

Органічні сполуки сечі	АК крові			
	ОГ (I), n = 50		ОГ (II), n = 48	
	АК	p	АК	p
Мітохондріальні (7 метаболітів)			ГЛУ	0,036*
Нейротрансмітерів (3 метаболіти)	АЛА	0,016*		
ІЛЕ, ЛЕЙ, ВАЛ (8 метаболітів)	ТРЕ	0,041*	АСН	0,023*
	МЕТ	0,01*	СЕР	0,021*
	ВАЛ	0,027*	ГЛІ	0,03*
			ОРН	0,01*
ФЕН, ТИР (4 метаболіти)			ТИР	0,011*
ГЛУ, АСП (3 метаболіти)	Г-ПРО	0,050*	АЛА	0,001*
			ТРЕ	0,021*
			ТИР	0,033*
			ЛІЗ	0,002*
МЕТ, ЦИС, В12 (4 метаболіти)			ГЛН	0,045*
ЛІЗ, ТРИ (3 метаболіти)	АСП	0,009*	ФЕН	0,044*
	ТРЕ	0,03*		
	ГІС	0,006*		
	ФЕН	0,027*		
	МЕТ	0,035*		
	ІЛЕ	0,013*		
Кетоз (4 метаболіти)			ФЕН	0,004*

Примітка: * - статистично значуща різниця ($p < 0,05$) при порівнянні груп.

Так, наявність залежності між підвищенням рівней АСП в крові та метаболітів ЛІЗ в сечі може бути наслідком використання АСП в синтезі лізину, а кореляція між підвищенням метаболітів ТРИ в сечі та ТРЕ крові може бути результатом перетворення треоніну в серин, з якого синтезується триптофан.

Залежність між підвищенням метаболітів ГЛУ, АСП в сечі та ТРЕ, АЛА, ЛІЗ в крові може бути наслідком залучання глутамату до синтезу цих амінокислот. Зв'язок глутамату крові із мітохондріальними метаболітами відображає задіяність

глутамату в циклі Кребса як попередника в синтезі α -глутарата в мітохондріях.

Глутамат крові, перетворюючись на аспарат, далі може виконувати роль попередника в синтезі цистину та відновленні метіоніну, що активно використовується як донатор метильних груп; це може пояснити кореляцію між метаболітами сірковмісних АК сечі та ГЛУ в крові.

Висновки

1. У гострому періоді ГІУ достовірно частіше підвищувались рівні наступних АК: глутамат, глі-

цин, аланін, валін, метіонін і лізин, які в першу чергу залучені до енергетичного обміну та гліко-неогенезу. Знижувались рівні триптофану і тирозину, а також гістидину і цистину, які необхідні для синтезу медіаторів та антиоксидантної дії.

2. У відновному періоді частіше були змінені амінокислоти, залучені до детоксикації аміаку, енергетичного метаболізму.

3. Серед ОК сечі найчастіше були змінені метаболіти циклу Кребса та АК, залучені до енергетичного метаболізму.

Література

1. Шабалов НП. Неонатология : учеб. пособ. В 2 т. Т. I. 3-е изд., испр. и дополн. Москва : МЕД-пресс-информ; 2004. 608 с.
2. Van Eerden P, Bernstein PS. Neonatal Encephalopathy and Cerebral Palsy: Defining the Pathogenesis and Pathophysiology. Washington; 2003. 94 p.
3. Пипа ЛВ, Свістільнік ТВ. Вивчення впливу ексайтотоксичних амінокислот на ступінь порушення свідомості при гнійних менінгітах у дітей. Здоровье ребенка. 2013;4:131-4.
4. Brekke E, Berger HR, Widerøe M, Sonnewald U, Morken TS. Glucose and Intermediary Metabolism and Astrocyte-Neuron Interactions Following Neonatal Hypoxia-Ischemia in Rat. Neurochem Res. 2017 Jan;42(1):115-32. doi: 10.1007/s11064-016-2149-9.
5. Зозуля ІС, Боброва ВІ, М'ясникова МП, Сич НС. Стан нейроамінокислот у хворих у гострому періоді інфаркту мозку з когнітивними порушеннями. Міжнародний неврологічний журнал. [Інтернет]. [цитовано 2017 Сер 12];2010;7. Доступно: <http://www.mif-ua.com/archive/article/14980>
6. Fuchs SA, Peeters-Scholte CM, de Barse MM, Roeleveld MW, Klomp LW, Berger R, et al. Increased concentrations of both NMDA receptor co-agonists D-serine and glycine in global ischemia: a potential novel treatment target for perinatal asphyxia. Amino Acids. 2012 Jul;43(1):355-63. doi: 10.1007/s00726-011-1086-9.
7. Zhu XY, Ma PS, Wu W, Zhou R, Hao YJ, Niu Y et al. Neuroprotective actions of taurine on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. Brain Res Bull. 2016;124:295-305. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.06.010.
8. Walker V, Mills GA. Effects of birth asphyxia on urinary organic acid excretion. Biol Neonate. 1992;61(3):162-72.
9. Noto A, Pomero G, Mussap M, Barberini L, Fattuoni C, Palmas F, et al. Urinary gas chromatography mass spectrometry metabolomics in asphyxiated newborns undergoing hypothermia: from the birth to the first month of life. Ann Transl Med. 2016 Nov;4(21):417. doi: 10.21037/atm.2016.11.27.
10. Beckstrom AC, Humston EM, Snyder LR, Synovec RE, Juul SE. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry method to identify potential biomarkers of perinatal asphyxia in a non-human primate model. J Chromatogr A. 2011 Apr 8;1218(14):1899-906. doi: 10.1016/j.chroma.2011.01.086.
11. Сырoвая АО, Шаповал ЛГ, Макаров ВА, Петюнина ВН, Грабовецкая ЕР, Андреева СВ, и др. Аминокислоты глазами химиков, фармацевтов, биологов. В 2-х т. Т. 1. Харьков: Щедра садиба плюс; 2014. 228 с.
12. Северин СЕ, редактор. Биологическая химия: учебник. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2004. 784 с.
13. Punzo D, Errico F, Cristino L, Sacchi S, Keller S, Belardo C, et al. Age-Related Changes in D-Aspartate Oxidase Promoter Methylation Control Extracellular D-Aspartate Levels and Prevent Precocious Cell Death during Brain Aging. J Neurosci. 2016 Mar;36(10):3064-78. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3881-15.2016.

АМИНОКИСЛОТЫ КРОВИ И ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ МОЧИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ГИПОКСИЧЕСКИ-ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

А.А. Яновская, Е.Я. Гречанина, Ю.Б. Гречанина

Харьковский национальный
медицинский университет
(г. Харьков, Украина)

Резюме

Введение. Гипоксически-ишемические поражения (ГИП) головного мозга являются частой причиной инвалидизации и дезадаптации детей. Роль и взаимодействие метаболитических путей в механизмах их развития ясны еще не до конца.

4. Работа демонстрирует спектр изменений АК при ГИУ, их взаимосвязь с другими метаболитическими путями; наличие корреляций между АК крови и ОК мочи и целесообразность их суммарного исследования для оценки метаболитического статуса после перинатальной гипоксии.

Перспективы дальнейших исследований

Мы считаем за целесообразное изучение изменений аминокислот крови и органических кислот мочи в зависимости от тяжести состояния и особенностей течения ГИУ.

AMINO ACIDS OF BLOOD AND ORGANIC ACIDS OF URINE IN DETERMINING METABOLIC STATUS WITH PERINATAL HYPOXIC-ISCHEMIC BRAIN DAMAGE

A. Yanovskaya, E.Ya. Grechanina, Yu.B. Grechanina

Kharkov National
Medical University
(Kharkov, Ukraine)

Summary

Introduction. Hypoxic-ischemic lesions (HIL) of the brain are a frequent cause of disability and disadaptation of children. The role and interaction of metabolic pathways in the mechanisms of their development are not yet clear.

Цель работы: изучить изменения уровней аминокислот (АК) крови и органических кислот (ОК) мочи при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении головного мозга.

Материалы и методы: обследовано 117 новорожденных с ГИП (из них 60 в остром периоде - в возрасте до 1 месяца, и 57 в раннем восстановительном периоде - в возрасте 1 - 4 месяца), и 35 относительно здоровых новорожденных. Всем детям проведено исследование свободных АК крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. У 98 детей с ГИУ исследованы ОК мочи методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии.

Результаты. Анализ аминокислот крови выявил: в остром периоде ГИУ - повышение уровней АК, которые являются медиаторами (глутамат, $p = 0,001$, глицин, $p = 0,038$), а также метионина ($p = 0,015$) и АК, которые вовлечены в энергетический метаболизм и поддержание постоянного уровня глюкозы крови: аланин ($p = 0,001$), треонин ($p = 0,028$), валин ($p = 0,01$), лейцин ($p = 0,021$); снижение уровней триптофана ($p = 0,0001$) и тирозина ($p = 0,015$), которые являются предшественниками нейромедиаторов. В раннем восстановительном периоде более часто отмечались изменения АК цикла мочевины, снижение валина. При анализе ОК мочи наиболее часто измененными были метаболиты цикла Кребса и дыхательной цепи (более 70% случаев), а также метаболиты АК с разветвленной цепью (более 60% случаев), которые также вовлечены в энергетический обмен. Обнаружены корреляции между изменениями уровней ОК в моче и АК в крови.

Выводы. Анализ АК крови после перинатальной гипоксии-ишемии обнаружил наиболее частые изменения уровней АК, вовлеченных в энергетический, нейротрансмиттерный метаболизм, детоксикацию аммиака. Выявлены изменения ОК мочи и их корреляция с изменениями АК крови. Работа демонстрирует целесообразность этих исследований для более глубокой оценки метаболического статуса после перинатальной гипоксии.

Ключевые слова: перинатальный; гипоксически-ишемическое поражение; аминокислоты; органические кислоты.

Objective: to study changes the levels of amino acids (AA) of blood and organic acids (OA) of urine with perinatal hypoxic-ischemic brain damage.

Materials and methods: 117 infants with GUI were examined (60 of them in the acute period – up to 1 month, and 57 in the early recovery period - at the age from 1 to 4 months), and 35 relatively healthy newborns. All children underwent a study of free AA blood by high-performance liquid chromatography. In 98 children with HIL, the urine was examined by gas chromatography-mass spectrometry.

Results. Analysis of blood amino acids revealed: in the acute period of HIL, increase in the levels of AA, which are mediators (glutamate, $p = 0.001$, glycine, $p = 0.038$), and methionine ($p = 0.015$) and AA, which are involved in energy metabolism and maintenance of a constant blood glucose levels: alanine ($p = 0.001$), threonine ($p = 0.028$), valine ($p = 0.01$), leucine ($p = 0.021$); decrease in levels of tryptophan ($p = 0.0001$) and tyrosine ($p = 0.015$), which are the precursors of neurotransmitters. In the early recovery period, changes in the AA of the urea cycle, a decrease level of valine, were observed more frequently. In the analysis of urine, the most frequently altered metabolites of the Krebs cycle and the respiratory chain (more than 70% of cases), as well as branched chain metabolites (more than 60% of cases), which are also involved in energy metabolism. Correlations were found between changes in the levels of OA in urine and AA in the blood.

Conclusions. Analysis of blood AA after perinatal hypoxic-ischemic condition revealed the most frequent changes in the levels of AA involved in energy and neurotransmitter metabolism, detoxification of ammonia. Was detected changes of the level of OA in the urine and their correlation with changes in blood AA. The work demonstrates the feasibility of these studies for the deeper assessment of the metabolic status after perinatal hypoxia.

Keywords. Perinatal, hypoxic-ischemic lesions, amino acids, organic acids.

Контактна інформація:

Гречаніна Юлія Борисівна - д.мед.н., завідувач кафедри медичної генетики Харківського національного медичного університету (м.Харків, Україна)

Контактна адреса: м. Харків, проспект Незалежності, 13.

Контактний телефон: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Гречаніна Олена Яківна – д. мед. н., професор, член-кореспондент АМНУ, професор кафедри медичної генетики Харківського національного медичного університету (м. Харків, Україна)

Контактна адреса: м. Харків, проспект Незалежності, 13.

Контактний телефон: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Яновська Ганна Олексіївна – заочний аспірант кафедри медичної генетики Харківського національного медичного університету.

Контактна адреса: м. Харків, проспект Незалежності, 13

Контактний телефон: +380577003217.

e-mail: mgc@ukr.net

Контактная информация:

Гречанина Юлия Борисовна - д.мед.н., заведующий кафедрой медицинской генетики Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина)

Контактный адрес: г. Харьков, ул. Независимости, 13.

Контактный телефон: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Гречанина Елена Яковлевна - д. мед. н., профессор, член-корреспондент АМНУ, профессор кафедры медицинской генетики Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина)

Контактный адрес: г. Харьков, ул. Независимости, 13.

Контактный телефон: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Яновская Анна Алексеевна - заочный аспирант кафедры медицинской генетики Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина)

Контактный адрес: г. Харьков, ул. Независимости, 13.

Контактный телефон: +380577003217.

e-mail: mgc@ukr.net

Contact Information:

Grechanina Julia Borisovna - MD, Head of the Department of Medical Genetics of Kharkiv National Medical University (Kharkov, Ukraine)

Contact address: Kharkiv, ave. Independence, 13.

Phone: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Grechanina Elena Yakivna - Corresponding Member AMNU, MD, Professor of the Department of Medical Genetics of Kharkiv National Medical University (Kharkov, Ukraine)

Contact address: Kharkiv, ave. Independence, 13.

Phone: +380577051674.

e-mail: mgc@ukr.net

Yanovska Anna Alekseevna - correspondence postgraduate student of the department of medical genetics of Kharkiv National Medical University (Kharkov, Ukraine)

Contact address: Kharkiv, ave. Independence, 13.

Phone: +380577003217.

e-mail: mgc@ukr.net