

ПЕДІАТРІЯ

УДК 616.63-053.2-008.3:612.461.175]076/078

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2016

Г.В. Бекетова, О. Я. Гречаніна, Т.М. Гнатенко

ВИЗНАЧЕННЯ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ В СЕЧІ МЕТОДОМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ-МАС- СПЕКТРОМЕТРІЇ У ДІТЕЙ З СИНДРОМОМ АЦЕТОНЕМІЧНОГО БЛЮВАННЯ

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П.Л.Шупика, м. Київ,

Харківський медичний університет, м. Харків

Вступ. Синдром ацетонемічного блювання це поширена маловивчена патологія дитячого віку, в етіології та патогенезі якої значну роль відіграють метаболічні порушення.

Мета. Визначити доцільність та інформативність дослідження органічних кислот в сечі методом газової хроматографії-мас-спектрометрії (ГХ-МС) для уточнюючої діагностики метаболічних порушень у дітей з рецидивуючим синдромом ацетонемічного блювання (САБ).

Матеріали і методи. Проведено визначення органічних кислот в сечі дітей під час ацетонемічного кризу методом газової хроматографії-мас-спектрометрії (ГХ-МС). В дослідження були включені 30 дітей віком від 3 до 10 років, з рецидивуючим ацетонемічним синдромом, що знаходилися на лікуванні в відділенні №2 Дитячої клінічної лікарні №9 м. Києва та стаціонарному відділенні медичного центру «Добробут»

Результати. Визначення органічних кислот в сечі під час ацетонемічного кризу методом ГХ-МС виявилось доцільним та високоінформативним для уточнюючої діагностики метаболічних порушень. В процесі дослідження найбільш часто зустрічалися зміни метаболітів, що є характерними для зменшення активності циклу Кребса, кетозу, порушення окислення жирних кислот. З такою ж частотою виявлялися зміни метаболітів кісткової і сполучної тканини/і, або дефіциту вітаміну С – у 20 (66%) випадків. Виявлена значима частота випадків – у 12(40%) хворих – дефіциту магнію. Зміни метаболітів, характерні для дефіциту вітамінів групи В визначалися у 15(50%) випадків. Виявлені особливості свідчать про зміни енергетичного метаболізму та можуть бути мішенню для вибору метаболічної корекції під час рецидивуючого САБ.

Ключові слова: синдром ацетонемічного блювання, діти, газова хроматографія-мас-спектрометрія сечі, метаболізм

Вступ. Серед захворювань дитячого віку достатньо часто доводиться зустрічатися з різними порушеннями обміну речовин, що супроводжуються розвитком ацетонемії та ацетонурії [1,5,4]. Синдром ацетонемічного блювання (САБ), або ацетонемічний синдром розглядається вітчизняними педіатрами як стан, який супроводжується періодичними ацетонемічними кризами, що характеризуються гіперурикемією, гіперкетонемією, ацетонурією та ацидозом

[1,2,3,6,7,8,9]. Основним симптомом САБ є багаторазове, часто нестримне блювання, прояви дегідратації та токсико-ексикозу, що в багатьох випадках потребують госпіталізації дитини для проведення інтенсивного лікування. В сучасних умовах виявлене значне зростання частоти САБ у дітей [1,2,3]. Як етіологія, так і патогенез САБ до цього часу остаточно не вивчені. Ще донедавна САБ розглядався як клінічний маркер генетично детермінованих особливостей обміну речовин (або, так званої, нервово-артритичної аномалії конституції), що характеризується зниженням активності ферментів печінки (глюкозо-6-фосфатази, гіпоксантингуанінфосфорібозилтрансферази), низькою ацетилюючою здатністю ацетилкоензіма А, дефіцитом щавлевої кислоти. Певну роль відіграють і порушення механізму повторного використання сечової та молочної кислот, а також нестабільність жирового і вуглеводного обмінів [2,3,5,9]. Виявлена також роль мітохондріальної дисфункції у дітей з САБ [3]. У частини дітей із САБ виявляють особливості метаболізму сполучної тканини [6]. Також рецидивуюча кетонурія характерна для деяких вроджених метаболічних порушень, в тому числі органічних аміноацидурій, які потребують диференційованої діагностики. З огляду на значну роль в етіології та патогенезі САБ різних видів порушень обміну речовин, доцільним представляється вивчення метаболічних особливостей під час ацетонемічного кризу для обґрунтування комплексного диференційованого лікування дитини як під час кризу, так і для протирецидивної терапії. Органічні кислоти (ОК) є ключовими метаболітами практично всіх шляхів проміжного метаболізму. Вони синтезуються в організмі людини як продукти метаболізму амінокислот, вуглеводів, нейротрансмітерів, жирних кислот, холестерола, пуринів і піримідинів. Використання аналізу ОК сечі за допомогою ГХ-МС дає можливість виявити патологічні метаболіти при різних порушеннях обміну і, тому є одним з основних методів проведення метаболічного скринінгу [4,5,10, 11]. У зв'язку з вищезазначеним, доцільним є застосування методу ГХ-МС для вивчення метаболічних особливостей перебігу САБ у дітей.

Мета. Визначити доцільність та інформативність визначення ОК сечі за допомогою ГХ-МС для уточнюючої діагностики метаболічних порушень у дітей з рецидивуючим синдромом ацетонемічного блювання.

Матеріали і методи. В процесі виконання роботи було обстежено 30 дітей у віці від 3 до 10 років з САБ (з них хлопчиків 16, дівчаток - 14). В дослідження включалися діти, що мали в анамнезі не менше 2 ацетонемічних кризів. Матеріалом для дослідження ОК була ранкова сеча, зібрана під час ацетонемічного кризу. Хроматографічний аналіз зразків сечі виконувався в лабораторії Харківського спеціалізованого медико-генетичного центру з використанням газового хроматографа мас-спектрометра фірми Agilent (ГХ 6890, МС 5975С) на капілярної колонці Agilent HP-5MS 5% Methyl Siloxane в режимі температурного градієнта. Кількісний перерахунок результатів виконували в перерахунку на рівень креатиніну, згідно із методикою, яка прийнята у світовій практиці [10,11,12]. Визначення рівня креатиніну сечі проводили колориметричним методом Яффе, з використанням тест-систем на біохімічному аналізаторі Microlab 300.

Результати та їх обговорення. Під час проведення дослідження виявлено, що визначення ОК в сечі методом газової хроматографії/мас спектрометрії дозволило діагностувати клінічно значимі метаболічні зміни у всіх 30 (100%) дітей з синдромом ацетонемічного блювання.

Дослідження органічних кислот в сечі методом газової хроматографії-мас-спектрометрії у дітей з САБ (n=30)

Групи метаболітів	Кількість дітей з порушеннями абс.ч. (%)	Кількість дітей без порушень абс.ч. (%)	Всього абс.ч.(%)
Метаболіти циклу Кребса і стану активності ферментів дихального ланцюга	20(66,6%)	10(33,4%)	30(100%)
Метаболіти обміну сірки: індикатори активності віт.В12 і фолієвої к-ти; недостатності молібдену; індикатори цистеїну, метіоніну, порушення процесів метилювання	5(16,6%)	25(83,4%)	30(100%)
Метаболіти оксалатів	5(16,6%)	25(83,4%)	30(100%)
Кетонів тіла, метаболіти окислення жирних кислот	20(66,6%)	10(33,4%)	30(100%)
Проміжні продукти гліколізу і метаболізму вуглеводів	5(16,6%)	25(83,4%)	30(100%)
Метаболіти грибів і дріжджів, бактерій	10(33,3%)	20(72,7%)	30(100%)
Метаболіти кісткової і сполучної тканини, порушення обміну проліну, гліцину	20(66,6%)	10(33,4%)	30(100%)
Метаболіти нейротрансмітерів	6(20%)	24(80%)	30(100%)
Метаболіти фенілаланіну, тирозину	0(0%)	30(100%)	30(100%)
Метаболіти триптофану, лізину, цистеїну, аргініну	4(13.3%)	26(86,7%)	30(100%)
Кетоз; метаболіти амінокислот з розгалуженим ланцюгом: лейцин, ізолейцин, валіна	12(40%)	18(60%)	30(100%)
Метаболіти глютаміну, глютамінової кислоти, аспарагінової кислоти , виснаження глутатіону	6(20%)	24(80%)	30(100%)
Індикатори активності віт. В1, В3	12(40%)	18(60%)	30(100%)
Індикатори активності віт. В2, В5	10(33,3%)	20(72,7%)	30(100%)
Індикатори активності вітаміну В6	15(50%)	15(50%)	30(100%)
Індикатор активності вітаміну В7	6(20%)	24(80%)	30(100%)
Індикатори активності коензиму Q10	5(16,6%)	25(83,4%)	30(100,0%)
Індикатор активності вітаміну С	18(60,0%)	12(40,0%)	30(100,0%)
Індикатори недостатності заліза, міді	6(20,0%)	24(80,0%)	30(100,0%)
Індикатори недостатності магнію	12(40,0%)	18(60,0%)	30(100,0%)
Індикатори недостатності інших мікроелементів: марганець, цинк, хрому , ванадію, селену	2(6,6%)	28(93,4%)	30(100,0%)
Метаболіти лікарських препаратів	0(0%)	30(100,0%)	30(100,0%)
Метаболіти прийому поліфенолів з флавоноїдів з їжею	0(0%)	30(100,0%)	30(100,0%)
Інші метаболіти і речовини	4(13,3%)	26(86,7%)	30(100,0%)

Багатокомпонентні метаболічні порушення були діагностовано у 25 (83,0%) хворих. Найбільш часто зустрічалися зміни, характерні для зменшення активності циклу Кребса і стану активності ферментів дихального ланцюга, кетозу, порушення окислення жирних кислот у 20 (66,6%) випадках. Вказане може свідчити в тому числі про промітохондріальну дисфункцію. Так само часто виявлялися зміни метаболітів кісткової і сполучної тканини/і, або дефіциту віт. С - у 20 (66,6%) випадків, що ймовірно може розглядатися в контексті сполучнотканинної дисплазії, особливо при поєднанні з виявленням у 12 (40,0%) випадках дефіциту магнію. Визначилася також велика частота змін метаболітів, характерних для дефіциту вітамінів групи В у 15 (50,0%) випадках САБ у дітей. Вітаміни групи В відіграють значну роль в різних ланках енергетичного метаболізму клітини. В 6 (20,0%) випадках виявлені значні зміни рівня метаболітів, характерних для порушення окислення жирних кислот, амінокислот з розгалуженими ланцюгами, що потребує виключення вродженого характеру порушень обміну речовин. Отримані дані вказують на доцільність і високу інформативність визначення органічних кислот в сечі методом ГХ-МС для уточнюючої діагностики метаболічних порушень у дітей з рецидивуючим синдромом ацетонемічного блювання. Важливою, з нашої точки зору, є наступна диференційована корекція виявлених змін для оптимізації метаболічних процесів в рамках комплексного протирецидивного лікування ацетонемічного синдрому у дітей.

Висновки. В кризовому періоді САБ у всіх пацієнтів виявлені клінічно значимі метаболічні порушення. Вірогідно, що виявлені методом ГХ-МС метаболічні зміни можуть бути метаболічними мішенями порушень при САБ, що дозволить диференційовано виявляти причини рецидивування ацетонемічного синдрому у дітей та індивідуально їх корегувати.

Використання аналізу ОК сечі за допомогою ГХ-МС дає можливість діагностувати вроджені захворювання обміну речовин (аміноацидурії), що зазвичай також супроводжуються рецидивуючою кетонурією. Простота та неінвазивність методу дозволяє використовувати його для діагностики, контролю успішності метаболічної диференційованої корекції виявлених змін та профілактики САБ у дітей.

Література

1. Бекетова Г.В., Гнатенко Т.М., Шпеко Н.І., Надточій Н.І. Ретроспективний аналіз особливостей перебігу синдрому ацетонемічного блювання у дітей. // Зб. наук. праць співроб. НМАПО ім.П.Л.Шупика. -К., 2014.-Вип. 23, кн.3. – С. 250-253.

2. Зрячкін Н. І., Хмилевская С. А., Зайцева Г. В. Особенности ацетонемического синдрома у детей. // Российский педиатрический журнал.–2013.– № 3.–С.22-28.

3. Бачурина Е.В. Клинико лабораторная характеристика ацетонемического синдрома у детей с патологией пищеварительной системы: автореф. дис. канд.мед.наук: 14.01.10 / Бачурина Елена Владимировна; Харьк. мед. акад. последиплом. образования. - Харьков, 2010. - 20 с.

4. Гречанина Е.Я., Новикова И.В., Гречанина Ю.Б., Здыбская Е.П. Определение органических кислот в биологических образцах методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии как высокоинформативный метод уточняющей диагностики наследственных болезней обмена.// Ультразвукова перинатальна діагностика.–2009. – №27/28. – С. 106-119.

5. Метаболічні хвороби. / Гречанина О.Я., Моїсеєнко Р.О. та ін. // Ультразвукова перинатальна діагностика. - Харків. - 2005. - №19. - С.108-126.
6. Ацетонемический синдром у детей как энергодифицитное состояние: профилактика развития с применением диетической добавки «Асконова» / Зайцева Н.Е., Сапа И.Ю., Пьянкова А.В., Малолетняя С.В., Евграфова Н.Б., Корчемная Л.В // Педиатрия. Восточная Европа. - 2013. - № 4 (04). – С.98-105.
- 7.Кривопустов С. П., Щербинская Е. Н., Степанова О. Г. / Рвота у детей как междисциплинарная проблема // Дитячий лікар. – 2012. – №5(6).– С.5-9.
- 8.Охотнікова О.М., Гладуш Ю.І., Іванова Т.П., Грищенко О.М., Зарудня О.Ф., Мостовенко Р.В., Руденко С.М., Сіладі Й.І. Ацетонемічний синдром у педіатричній практиці: діагностична підступність і непередбачуваність! // Дитячий лікар. – 2011. – №4. – С. 10–18.
- 9.Хоффман Г. Анализ органических кислот // Ультразвукова перинатальна діагностика.- Харків. - 2005. - №19. - С 71-83.
- 10.Metabolic medicine: new developments in diagnosis and treatment of in born errors of metabolism / Hoffmann J., Lindner M., Shahbek N., Barić I., AlThani, Hoffmann G. // World J. Pediatr. - 2006. – Vol 2, No 3. - P.169-176.
- 11.Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases /Ed. by N. Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics, K.M.Gibsson. – Germany: Springer, 2003. - 688p.

Г.В. Бекетова, Е.Я. Гречанина, Т.Н. Гнатенко

Определение органических кислот в моче методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии у детей с синдромом ацетонемической рвоты

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев,

Харьковский государственный медицинский университет, г. Харьков

Введение. Синдром ацетонемического рвоты это распространенная мультифакториальная патология детского возраста, в этиологии и патогенезе которой значительную роль играют метаболические нарушения.

Цель. Определить целесообразность и информативность определения органических кислот в моче методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) для уточняющей диагностики метаболических нарушений у детей с рецидивирующим синдромом ацетонемической рвоты (САР).

Материалы и методы. Проведено определение органических кислот в моче во время ацетонемического кризиса методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии. В исследование были включены 30 детей в возрасте от 3 до 10 лет, с рецидивирующим ацетонемическим синдромом, находившихся на лечении в отделении №2 Детской клинической больницы №9 г.Киева и медицинского центра «Добробут».

Результаты. Определение органических кислот в моче во время ацетонемического криза методом ГХ-МС оказался целесообразным и высокоинформативным для уточняющей диагностики метаболических нарушений. В процессе исследования наиболее часто встречались изменения метаболитов, характерные для уменьшения активности цикла Кребса, кетоза, нарушения окисления жирных кислот, с такой же частотой – выявлялись изменения метаболитов костной и соединительной ткани/и или дефицита вит. С - в 20(66%) случаях. Обнаружена значимая частота выявления дефицита магния - у 12(40%) больных. Изменения метаболитов, характерные для дефицита витаминов группы В определялись у 15(50%) случаев.

Выявленные особенности свидетельствуют об изменениях энергетического метаболизма, и могут быть мишенями для выбора метаболической коррекции при рецидивирующем САБ.

Ключевые слова: синдром ацетонемического рвоты, дети, газовая хроматография-масс-спектрометрия мочи, метаболизм

G.V. Beketova, E.Y. Grechanina, T.M. Gnatenko

Determination of organic acids in urine by gas chromatography-mass spectrometry in children with recurrent vomiting acetone syndrome

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education,
Kharkov State Medical University**

Introduction. Acetone vomiting syndrome is a common multifactorial disease of children, in the etiology and pathogenesis of which play a significant role in metabolic disorders.

Goal. To determine the feasibility and informative determination of organic acids in urine by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for specifying the diagnosis of metabolic disorders in children with recurrent vomiting acetone syndrome (ASS).

Materials and methods. A determination of organic acids in urine during acetone crisis by gas chromatography / mass spectrometry. The study included 30 children aged 3 to 10 years with recurrent acetone syndrome who were treated at the department of Children's Hospital №9 c. Kiev and the medical center "Dobrobut".

Results. Method for determination of organic acids in urine during acetone crisis by GC-MS was highly informative and appropriate for clarifying diagnosis of metabolic disorders. In the process of research the most frequent changes in metabolites that are specific to reduce the activity of the Krebs cycle, ketosis, violation oxidation of fatty acids with the same frequency - were found metabolite changes of bone and connective tissue and / or vitamin deficiency. C - 20 (66%) cases. The observed incidence of significant - in 12 (40%) patients - magnesium deficiency. Changes metabolites characteristic deficiency of B vitamins were determined in 15 (50%) cases. The features indicate a change in energy metabolism, and can be targeted to select metabolic correction in recurrent SAB.

Key words: acetone vomiting syndrome, children, morbidity, gas chromatography-mass spectrometry urine.

Відомості про авторів:

Гречаніна Олена Яківна - д.мед.н., професор, зав. кафедрою генетики ХМУ.

Бекетова Галина Володимирівна - д.мед.н., професор, зав. кафедрою дитячих і підліткових захворювань НМАПО імені П.Л. Шупика.

Гнатенко Тетяна Миколаївна - очний аспірант кафедри дитячих і підліткових захворювань НМАПО імені П.Л. Шупика.