

А.А. Яновская, М.В. Канюка

*Межобластной специализированный медико-генетический центр –
центр редких (орфанных) заболеваний, Харьков, Украина*

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОВЫШЕНИЯ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ И 4-ГИДРОКСИБУТИРОВОЙ КИСЛОТ В МОЧЕ У ДЕТЕЙ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО КРИЗА

Резюме: в статье приведены современные представления о метаболизме 4-гидроксибутировой и гамма-аминомасляной кислот, клинические наблюдения, требующие исключения недостаточности полу альдегида янтарной кислоты.

Пациенты обследованы с применением молекулярных и биохимических методов, синдромологического анализа. Определение органических кислот мочи проводили методом газовой хроматографии масс-спектрометрии на газовом хроматографе масс-спектрометре фирмы Agilent. Представленные наблюдения демонстрируют целесообразность включать в комплекс обследований метаболиты ГАМК в моче у детей с судорогами, проявлениями церебрального угнетения. Нами также было отмечено сочетание высоких уровней 4-гидроксибутировой кислоты в моче со значительным повышением уровней гликолевой и молочной кислот, которые в литературе не описаны как маркеры 4-гидроксибутировой ацидурии.

Ключевые слова: 4-гидроксибутировая кислота, гликолевая кислота, метаболический криз, газовая хроматография – масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является важным ингибиторным нейротрансммитером в ЦНС; регулирует пробуждение, физическую активность и сон. Синтез ГАМК в мышцах из глутамина и орнитина является наиболее вероятным ее источником в крови; концентрация в плазме отображает уровень ГАМК в спинно-мозговой жидкости (СМЖ). Повышение ГАМК, вероятно, отображает снижение превращения в сукцинат в процессе утилизации в цикле Кребса и образования энергии. Высокие уровни ГАМК в крови могут указывать на потенциально неадекватное образование энергии в мышцах и, возможно, в других тканях. В моче может повышаться при гипер β-аланемии [1, 2]. Повышенное образование ГАМК наблюдается при гипоксии, являясь одним из основных механизмов патогенеза гипоксически-ишемическом поражении мозга у детей [3]. 2-оксоглутаровая кислота и пиродоксин являются кофакторами в метаболических реакциях ГАМК и могут быть использованы для коррекции метаболических нарушений и оптимизации клеточного образования энергии. 4-гидроксибутировая кислота является промежуточным предшественником ГАМК, может вызывать брадикардию и дискинезию. Получаемая с пищей, она может использоваться для превращения в ГАМК. Точная функция ее до конца не ясна. 4-гидроксибутират защищает

клетки от кислородного голодания, а также обладает нейрозакщитными способностями (выступает нейропротектором) [4, 5].

4-гидроксибутировая кислота может повышаться при: приеме препаратов, содержащих гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК); недостаточности дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты (4-гидроксибутировой ацидурии); глутаровой ацидурии II-го типа; вторично, вследствие повышения ГАМК [1, 5].

При недостаточности дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты (4-гидроксибутировая ацидурия; недостаточность SSADH, аутосомно-рецессивный тип наследования, OMIM:271980) возможны такие клинические и биохимические изменения. Клиника: атаксия, странное или ненормальное поведение, потеря ориентации, аутистичное или аутистично-подобное поведение, гиперактивное или тревожное/неугомонное поведение, хорей (пляска Витта) или атетоз, атетоидный гиперкинез, кома, гиперрефлексия, гипорефлексия, гипотония, летаргия, вялость, сонливость, недомогание, макроцефалия, врожденное слабоумие, микроцефалия, задержка моторного развития, миопатия, рваные красные волокна, припадки, задержка речевого развития или ненормальное развитие речи.

Изменение метаболитов: полуальдегид янтарной кислоты в плазме и моче – ↑; гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) в СМЖ и плазме – ↑;

4-гидроксibuтирова кислота в плазме, СМЖ, моче – ↑↑ – ↑↑↑;

2,3-дигидроксibuтират в моче – ↑ – ↑↑; 3,4-дигидроксibuтират в моче – ↑ – ↑↑; гликолевая кислота в моче – N – ↑↑; лактат – ↑↑ – ↑↑↑ [1, 7, 8].

Особенностью изменений метаболитов при недостаточности дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты является повышенное выведение с мочой дополнительно 2,3-дигидроксibuтировой и 3,4- дигидроксibuтировой кислот, часто сопровождающееся значительным повышением гликолевой и молочной кислот. Подобная картина может наблюдаться и у пациентов с тяжелым нарушениями обмена углеводов, принимающих препараты ГАМК; но в этом случае должна быть позитивной проба на редуцирующие вещества. Нельзя исключить проявление во время метаболического криза и при гетерозиготном носительстве.

Цель: изучить клинические и биохимические особенности у пациентов с проявлениями недостаточности полуальдегида янтарной кислоты по данным газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Материалы и методы. Обследование пациентов проводили с применением генеалогического, синдромологического, молекулярных и биохимических методов. Анализ органических кислот (ОК) мочи проводили методом газовой хроматографии масс-спектрометрии на газовом хроматографе масс-спектрометре фирмы Agilent. Анализ полученных хроматограмм и масс-спектров выполняли с помощью программ MSD Chemstation, NIST Mass Spectral Search Program, AMDIS, и библиотек масс-спектров (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 05)).

Результаты. У трех детей, которые были консультированы в реанимационном отделении с подозрением на метаболический криз, при первичном исследовании мочи методом ГХ-МС выявлены изменения, требующие исключения недостаточности полуальдегида янтарной кислоты (значительное повышение уровней 4-гидроксibuтировой, 2,3-дигидроксibuтировой и 3,4- дигидроксibuтировой кислот).

Ребенок М был осмотрен в возрасте 1,5 месяца в отделении реанимации, куда был доставлен с острым нарушением мозгового кровообращения.

Из анамнеза: в возрасте 1 месяц появились жалобы на беспокойство, капризность; отказ от еды, выгибания; в динамике выросла вялость, сонливость, капризность. Был госпитализирован в отделение реанимации; отмечалась адинамия, эпизоды апноэ, осиплый голос, умеренная гепатомегалия. Диагностировано острое нарушение мозгового кровообращения по геморрагическому типу с формированием внутримозговой

гематомы левой лобной доли; отек головного мозга; синдром угнетения ЦНС; судорожный синдром, синдром вегето-висцеральных нарушений. Кома I-II ст.

При дополнительном обследовании выявлено:

– В крови: ↓гемоглобин 64 г/л, глюкоза 6.8, 4.0 ммоль/л, ↑билирубин 114.8 мкмоль/л, ↑мочевая кислота 4,77Ед/л, ↓Са 2,12ммоль/л, ↑Р 2,35ммол/л, ↓белок 47,06г/л; амилаза, железо, холестерин, АСТ, АЛТ, ГГТ, мочевины, креатинин, ЩФ, КФК, ЛДГ, лактат – норма.

– Выявлены полиморфные варианты генов фолатного цикла MTRR 66GG, MTHFR 677CT, MTR 2756AG.

– Анализ мочи методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии – выявлены изменения метаболитов, характерные для недостаточности полуальдегида янтарной кислоты, а также метаболиты: углеводов, кетоза, нарушение окисления аминокислот с разветвленной цепью, нейротрансмиттеров, недостаточности B1, B2, B3, B5, биотина, коэнзима Q10, Mg, Zn, повышенные при лактат-ацидозе.

Было диагностировано комплексное нарушение обмена веществ: серосодержащих аминокислот, кобаламина (дефицит метионинсинтазы-редуктазы, полиморфные варианты генов MTHFR C677T, MTR A2756G); нарушение энергетического метаболизма, - вероятнее всего, дефицит полуальдегида янтарной кислоты.

Наряду со стандартной терапией проводилась коррекция выявленных метаболических нарушений. Состояние улучшилось; у ребенка сохраняется некоторая задержка темпов развития.

Пациент С был осмотрен в стационаре в возрасте 1,5 месяца, с диагнозом: синдром полиорганной недостаточности (дыхательная, церебральная, сердечно-сосудистая), системного воспалительного ответа; кома II.

Из анамнеза: в возрасте 2 месяца у ребенка появился кашель, повышение температуры тела 38.3 °С, дистанционные хрипы; на фоне амбулаторного лечения бронхита в течение 4 дней состояние ухудшалось, ребенок был госпитализирован в стационар. Состояние было тяжелое – вялость, тонус мышц резко снижен; в динамике нарастала гипотония, гиподинамия; были приступы пароксизмальной тахикардии, диспноэ; сознание угнетено, фотореакции вялые. Проводились реанимационные мероприятия, ИВЛ.

На 2-3 неделе лечения были судороги, поперхивания, проблемы при глотании; увеличение печени, отеки. Состояние длительно оставалось крайне тяжелым за счет проявлений полиорганной недостаточности (дыхательная, церебральная, сердечнососудистая), синдрома системного воспалительного ответа, метаболических, водно-электролитных нарушений.

При додатковому обстеженні:

– КТ легких - полисегментарная пневмония с ателектазом III сегментов обоих легких. КТ головного мозга – признаки наружной гидроцефалии.

– УЗИ – гидроперитонеум, отек поджелудочной железы, пневмоторакс, хилоторакс.

– Гематолог: лейкомоидная реакция крови, преобладает нейтрофильный тип за счет вирусно-бактериальной инфекции.

– Невролог: гипертензионно-гидроцефальный синдром, синдром двигательных нарушений, отек головного мозга, кома II ст., судорожный синдром.

– В крови: гемоглобин 128, 90, 116г/л, эритроциты 4.4, 3.3, 4.08 *10¹²/л, лейкоциты 54.5, 32.0, 14.2 *10⁹/л, тромбоциты 487, 288, 258*10⁹/л; рН 7.42, 7.35, 7.403, 7.29; ↑мочевина 4.6, 8.7; ↑креатин 0.066, 0.134; глюкоза 5.23, 3.3, 4.6; СРБ+++; ↑лактат 2,71ммоль/л, ↑железо 19,36ммоль/л, ↓Са 1,97ммоль/л, Са⁺⁺1,07; ↓Р 1,06ммоль/л, ↑ЛДГ 769,51↑(0-450Ед/л), белок 45,61↓(60-78г/л), альбумин 25,49↓ (38-54г/л); холестерин, АСТ, АЛТ, билирубин, креатинин, ЩФ, магний, КФК - в пределах нормы.

– Молекулярный анализ – выявлены полиморфные варианты генов:

МТНFR 677СТ, МТRR 66 GG, МТR 2756AG, РАI -675(4G/4G),

II фактор 20210 GA.

– В моче белок ++; кровь +; индикан +; фруктоза +; следы углеводов; тест с магниевым реактивом красно – коричневый (пиридоксинзависимость).

– При газовой хроматографии и масс-спектрометрии мочи – выявлены изменения метаболитов: недостаточности полуальдегида янтарной кислоты, лактат-ацидоза, углеводов, кетоза, нарушений аминокислот с разветвленной цепью, цикла Кребса, окисления жирных кислот, недостаточности В1, В2, В3, В5, биотина, коэнзима Q10, Zn, Fe, C, нарушения микрофлоры ЖКТ.

Таким образом, у ребенка с тяжелыми полиорганными нарушениями выявлено: дефицит метионинсинтазы-редуктазы; нарушения в промежуточном метаболизме, митохондриальная дисфункция.

Наряду с проводимой противовоспалительной, симптоматической терапией назначалась метаболическая кофакторная терапия (кудесан, карниель, пиридоксин, корилип), диета. Состояние ребенка улучшилось, развивается удовлетворительно.

Пациент III консультирован в детском стационаре в возрасте 5 месяцев с жалобами на судороги, вялость, срыгивания.

Из анамнеза: с рождения отмечался тремор верхних конечностей; назначался пиридоксин – тремор уменьшился; изредка были вздрагива-

ния. После профилактических прививок в возрасте 3.5, 4.5 месяцев отмечался субфебрилитет, вялость. В возрасте 5 месяцев без видимой причины появилось беспокойство, капризность, подгибал ножки. Через день ребенок стал сонливым, развился судорожный приступ с выгибанием, запрокидыванием головы. Госпитализирован в отделение реанимации; в стационаре отмечались частые тонико-клонические судороги длительностью до 3 мин. Диагноз: симптоматическая эпилепсия, частые тонико-клонические припадки.

При КТ – петехиальные кровоизлияния, умеренная наружная гидроцефалия.

При дополнительном обследовании:

– Выявлен полиморфизм 66AG в гене МТRR.

– В крови: ↑гомоцистеин 10.8ммоль/л, ↓холестерин 2.3, 2.4 ммоль/л, глюкоза 4.39 ммоль/л, триглицериды 0,26, 0,83(0,4–1,24 ммоль/л), мочевины 1.36, 3.43(1,4–6,8 ммоль/л), мочевая кислота 1.91, 2.8 (2 – 5,5 Ед/л), ↑КФК 370Ед/л, Na 134.5 (135 – 148 ммоль/л); белок, железо, Са, Р, К⁺, АСТ, АЛТ, билирубин, ГГТ, креатинин, ЩФ, лактат, ЛДГ – в пределах нормы.

– Анализ мочи методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии – выявлены изменения метаболитов: углеводов (нельзя исключить мягкую форму недостаточности полуальдегида янтарной кислоты или прием ГАМК), серы, окисления жирных кислот, пиримидинов; цикла Кребса, кетоза, аминокислот с разветвленной цепью, грибов и дрожжей; триптофана, недостаточности В1, В2, В3, В5, биотина.

У ребенка диагностировано сложное нарушение обмена веществ: нарушения в обмене серосодержащих аминокислот, кобаламина; нарушение обмена жирных кислот, нейротрансмиттеров. К проводимой противосудорожной терапии была добавлена метаболическая коррекция, диета. На фоне лечения судороги прекратились.

При контроле анализа мочи методом ГХ и МС: через месяц от начала метаболической коррекции – выявлены изменения метаболитов: окисления жирных кислот в митохондриях, серы, соединительной ткани, недостаточности В2, В5, биотина, нарушения микрофлоры ЖКТ.

Через полгода – бактериальные метаболиты, метаболиты вальпроатов; через год – бактериальные метаболиты.

Состояние улучшилось, сохранялась некоторая задержка в моторном развитии; в возрасте 1,5 года были отменены противосудорожные препараты.

Выводы: представленные наблюдения демонстрируют целесообразность включать в комп-

лекс обстежених у дітей при острих станах, проявленнях церебрального угнетення, судорожному синдромі метаболіти ГАМК для уточнення характеру метаболічних порушень.

Поскольку при этих дефектах метаболизма противопоказан прием препаратов, содержащих ГАМК, необходимо учитывать наличие таких нарушений при подборе как противосудорожной, так и кофакторной метаболіческой терапии в комплексном лечении пациентов.

В приведенных наблюдениях нами было отмечено сочетание высоких уровней 4-гидроксибутировой кислоты в моче со значительным повышением уровней гликолевой и молочной кислот, которые в литературе не описаны как маркеры 4-гидроксибутировой ацидурии.

ЛИТЕРАТУРА

1. <http://metagene.de>
2. Blau N, Duran M, Blaskovics ME, editors. Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases. Berlin; Heilberg; New York: Springer; 2006. p. 11-26. (30)

3. Пальчик АБ, Шабалов НП. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. 4-е изд. Москва: МЕДпресс-информ, 2013. 288 с.
4. <http://hmdb.ca>
5. <http://www.omim.org>
6. Zschocke J, Hoffmann GF, Milupa AG. Vademecum metabolicum: Manual of metabolic paediatrics. Friedrichsdorf: Milupa; 2011.
7. Clarke JTR. A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases. 3rd. Cambridge; New York: Cambridge University Press; 2005. Chapter 9, Laboratory investigation; p. 241-63.
8. Rosenthal MD, Glew RH. Medical biochemistry: Human metabolism in health and disease. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, cop. 2009.
9. Газова хроматографія мас-спектрометрія, як метод лабораторної діагностики метаболічних порушень Гречанина О.Я та ін./ Навчальний посібник для лікарів-інтернів та курсантів. – Харків: ХНМУ, 2010. – 87 с.

А.О. Яновська, М.В. Каныука

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ПІДВИЩЕННЯ ГАММА-АМІНОМАСЛЯНОЇ І 4-ГІДРОКСІБУТИРОВОЇ КИСЛОТ В СЕЧІ У ДІТЕЙ З ПРОЯВАМИ МЕТАБОЛІЧНОГО КРИЗУ.

Резюме: в статті наведені сучасні уявлення про метаболізм 4-гідроксibuтирової і гамма-аміномасляної кислот, клінічні спостереження, що вимагають виключення недостатності напівальдегіду янтарної кислоти. Пацієнти обстежені із застосуванням молекулярних і біохімічних методів, синдромологічного аналізу. Визначення органічних кислот сечі проводили методом газової хроматографії мас-спектрометрії на газовому хроматографі мас-спектрометрії фірми Agilent. Представлені спостереження демонструють доцільність включати в комплекс обстежень метаболіти ГАМК в сечі у дітей з судомою, проявами церебрального пригнічення. Нами також було відзначено поєднання високих рівнів 4-гідроксibuтирової кислоти в сечі зі значним підвищенням рівнів гликолевої та молочної кислот, які в літературі не описані як маркери 4-гідроксibuтирової ацидурії.

Ключові слова: 4-гідроксibuтирова кислота, гликолева кислота, метаболічний криз, газова хроматографія - мас-спектрометрія.

А.А Yanovskaya, M.V. Kanyuka

INTERPRETATION OF AN INCREASE IN GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID AND 4-HYDROXYBUTYRIC ACID IN THE URINE OF CHILDREN WITH MANIFESTATIONS OF METABOLIC CRISIS.

Summary: The article presents the current understanding of the metabolism of 4-hydroxybutyric and gamma aminobutyric acids, clinical observations that require the exclusion of succinic semialdehyde acid deficiency.

Patients were examined using molecular and biochemical methods, syndromological analysis. The determination of urine organic acids was conducted by gas chromatography-mass spectrometry by Agilent gas chromatograph mass spectrometer. The presented observations show that it is appropriate to include GABA metabolites of urine in children with convulsions, manifestations of cerebral suppression into the complex of examinations. We have also reported a combination of high levels of 4-hydroxybutyric acid in urine with a significant increase of glycolic and lactic acid levels, which are not described as markers of 4-hydroxybutyric aciduria in literature.

Keywords: 4-hydroxybutyric acid, glycolic acid, metabolic crisis, gas chromatography – mass spectrometry, metabolic crisis, gas chromatography - mass spectrometry.

Надійшло до редакції 06.03.2019 р.

Підписано до друку 21.05.2019 р.