

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК – 616.481.-008.6-053.2-074

© Коллектив авторов

### ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОБМЕНА КАТЕХОЛАМИНОВ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ И ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ.

Е.В. КАСАТИКОВА<sup>1</sup>, Н.П. ЛАРИОНОВ<sup>1</sup>, Е.В. ПОПКОВА<sup>2</sup>, И.П. БРЯЗГУНОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Владимирский Государственный Педагогический Университет кафедра химии. г. Владимир, пр. Строителей, 11. (0922)33-9784

<sup>2</sup>НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, лаборатория генетических механизмов адаптации, 125, Москва, Балтийская, 8, (095)155-4703

<sup>3</sup>Научный Центр Здоровья Детей РАМН, отделение функциональной патологии, 117296, Москва, Ломоносовский пр. 2/62, (095)134-1494

Исследовали особенности обмена катехоламинов у детей в возрасте 7-9 лет (18 мальчиков и 7 девочек) с синдромом дефицита внимания и гиперактивностью (СДВГ). Всего было обследовано 25 детей.

Для оценки экскреции катехоламинов применялся метод ВЭЖХ с предварительной адсорбцией их на окиси алюминия. Базальный уровень катехоламинов оценивался по содержанию в утренней порции мочи.

Показано, что при СДВГ базальная экскреция адреналина и норадреналина была выше – в 3,9 и 5,4 раза по сравнению с контролем. После эмоциональной нагрузки, которая включала выполнение психологических тестов на внимание, память, мыслительную активность, экскреция норадреналина в группе СДВГ оказалась в 2,1 раза ниже, чем в контроле. Экскреция адреналина, наоборот, увеличилась в 2,8 раза.

Полученные результаты свидетельствуют о гиперактивации симпато-адреналовой системы и особенно её гормонального звена у детей с СДВГ.

**Ключевые слова:** катехоламины, синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

**ВВЕДЕНИЕ.** Синдром дефицита внимания с гиперактивностью (attention deficit hyperactivity disorder) [1], именуемый также гиперкинетическим расстройством [2], наблюдается у детей в возрасте от 3 до 15 лет, но наиболее часто проявляет себя в дошкольном и младшем школьном возрасте. Данное расстройство является одной из форм минимальных мозговых дисфункций у

детей. Оно характеризуется патологически низкими показателями внимания, памяти, слабостью мыслительных процессов в целом при нормальном уровне интеллекта. Произвольная регуляция развита слабо, работоспособность на занятиях низкая, утомляемость повышена. Также отмечаются отклонения в поведении: двигательная расторможенность, повышенная импульсивность и возбудимость, тревожность, реакции негативизма, агрессивность. При начале систематического обучения возникают трудности в освоении письма, чтения и счёта. На фоне учебных трудностей и, нередко, отставании в развитии социальных навыков возникает школьная дезадаптация и различные невротические расстройства. Клинические проявления синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) детально описаны в большом числе монографий и обзоров [3-6].

Высокая распространённость (3-17%), сохранение симптомов в подростковом и взрослом возрасте, отсутствие высокоэффективных методов лечения и коррекции обуславливают актуальность изучения механизмов данного расстройства [3-5]. На сегодняшний день общеприняты четыре патогенетические концепции СДВГ: нейропсихологическая - нарушения самоконтроля и регуляции, нейрофизиологическая - нарушения в префронтальной коре и стриатуме, биохимическая - отклонения в развитии катехоламинэргических систем, генетическая - нарушения экспрессии генов дофаминавого рецептора (DRD<sub>4</sub>) и дофаминавого транспортёра (DAT<sub>1</sub>) [4, 5].

Начиная с 70-х годов, было проведено множество исследований с целью изучения биохимических механизмов расстройства [6-9, 14, 15]. Их результаты показали, что важную роль в патогенезе СДВГ играют изменения в состоянии центральных катехоламинэргических систем.

Когнитивно-поведенческие отклонения, выявляемые у детей с синдромом, связывают с нарушением нейротрансмиссии корковых и стриатных центров, отвечающих за внимание, память, моторный контроль и саморегуляцию [4].

Гипотеза о нарушении обмена катехоламинов мозга при СДВГ обоснована результатами биохимических исследований содержания аминов в биологических жидкостях, а также нейрофармакологическими исследованиями влияния психостимулянтов ЦНС, обладающих выраженным терапевтическим эффектом при данном расстройстве. Предполагается, что эти препараты увеличивают доступность катехоламинов на уровне синапсов путём стимуляции их выделения и торможения обратного захвата в пресинаптических нервных окончаниях [5, 6].

Результаты изучения экскреции катехоламинов показали существование различий в их метаболизме у детей с СДВГ и здоровых [7,8,10,14,15]. Однако полученные данные противоречивы, поэтому до сих пор нет однозначного мнения по вопросу нарушений обмена катехоламинов при СДВГ. Причиной этого является не только клиническая разнородность группы, но, прежде всего, непроницаемость гематоэнцефалического барьера для свободных катехоламинов [9]. В последнее время в биологической психиатрии разрабатывается «периферическая модель центральной нервной системы», согласно которой биохимические показатели крови и мочи отражают особенности состояния биохимических систем мозга [10, 15].

Катехоламины, выделяемые с мочой, являются показателями активности симпатно-адреналовой системы (САС), основную роль в которой играет мозговое

вещество надпочечников, а также скопления хромоаффинной ткани вне надпочечников и периферические симпатические окончания в сердце и органах желудочно-кишечного тракта [14].

САС осуществляет влияние на корковую деятельность как путём непосредственного воздействия через прямые эффекторные волокна (в составе симпатических нейронов), так и путём активации коры через ретикулярную формацию [10]. Поэтому адренэргические показатели САС могут косвенно характеризовать состояние катехоламинового обмена в ЦНС [7, 14].

Pliszka S.R. и Maas Y.W. [7] удалось обнаружить динамику экскреции периферического норадреналина и адреналина в двухчасовой порции мочи при эмоциональной нагрузке. Результаты показали, что у детей с СДВГ выделяется меньше катехоламинов в ответ на нагрузку по сравнению со здоровыми детьми [7].

Это позволяет предположить, что оценка экскреции катехоламинов в ответ на нагрузку может быть использована в качестве объективного диагностического метода при данном расстройстве.

Мы исследовали экскрецию катехоламинов у детей в 1,5-часовой порции мочи до и после эмоциональной нагрузки.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В исследовании участвовало 25 школьников (18 мальчиков и 7 девочек) 7-9 лет. Все они имели трудности в обучении. Диагностика СДВГ осуществлялась с помощью вопросника С.К. Connersa для родителей и учителей, апробированного в ММА им. Сеченова [11]. Проводилось психологическое тестирование памяти, внимания, мыслительной активности (методики Векслера, Шульте, Тулуз-Пьерона). По результатам тестирования у 15 детей были выявлены симптомы дефицита внимания с гиперактивностью, включающие нарушения внимания, двигательную расторможенность, повышенную импульсивность, а также трудности в общении с окружающими, социально неадекватное поведение и другие признаки [4, 11]. IQ у всех детей был в норме. Все участники были здоровы и не получали медикаментозного лечения за 3 недели до эксперимента. Кроме того, в течение 4-х дней – до эксперимента и во время него - в питании детей отсутствовали продукты с повышенным содержанием катехоламинов (сыр, мясо, бананы, крепкий чай, кофе).

В день эксперимента образцы мочи брались дважды - до нагрузки (в 8 часов утра) и после нагрузки (в 10 часов).

Эмоциональная нагрузка заключалась в выполнении тестовых заданий на память, внимание и мыслительную активность (продолжительность 30 минут) и решение арифметических задач, соответствующих возрасту детей (продолжительность 30 минут).

Сбор мочи производили в посуду из тёмного стекла. В качестве консерванта использовали 6 М HCl, добавляя её с таким расчётом, чтобы pH мочи было не выше 3. Это значение pH является оптимальным, так как не происходит окисления свободных катехоламинов. Образцы можно хранить до 2-х недель при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  с добавлением в качестве консерванта 200 мкл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$  на 20 мл мочи.

Экстракцию проводили в полипропиленовых пробирках с крышками («Corning»). 5 мл мочи доводили до pH 6,2-6,6 1М NaOH. Добавляли 5 мл трис-

буфера pH 8,6 и 50 мг активированной окиси алюминия. Встряхивали 15 мин, центрифугировали 4 мин при 3000 об/мин. Супернатант удаляли с помощью вакуумного насоса и дважды промывали окись алюминия бидистиллированной водой. Катехоламины элюировали 500 мкл 0,1М хлорной кислоты. Затем 10 мин пробы интенсивно встряхивали и центрифугировали. 25 мкл элюата вносили в хроматограф.

Для определения катехоламинов использовали автоматизированный комплекс для ВЭЖХ серии «HP1050» и электрохимический детектор «HP1050». Использована колонка 125x4 мм «Spherisorb ODS2» с преколонкой 4x4 мм. Температура колонки поддерживалась на уровне 35°C. Подвижная фаза была приготовлена на основе цитрат-фосфатного буфера pH 3,0, содержащего 2μM Na<sub>2</sub>ЭДТА и 1,5μM ион-парного реагента - гептансульфоната натрия. Скорость потока - 0,8 мл/мин. В качестве стандартов катехоламинов и внутреннего стандарта (дигидроксibenзиламина - ДГБА) были использованы растворы фирмы «Sigma».

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и коэффициента ранговой корреляции Спирмена [12].

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Проведённые исследования показали, что для группы здоровых детей характерно низкое содержание катехоламинов в покое и высокое высвобождение после эмоциональной нагрузки. На рисунках 1 и 2 видно, что экскреция норадреналина (НА) в контроле после тестов выросла в 2,6 раз, а адреналина (А) - в 1,8 раз. Такая динамика, по мнению Dienstbier [13], свидетельствует о высокой устойчивости к стрессу и коррелирует с хорошим выполнением умственных заданий.

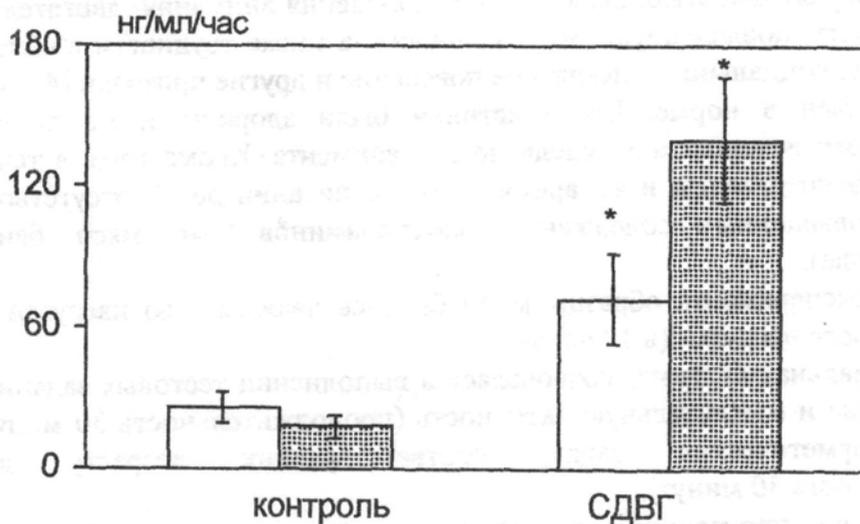


Рисунок 1.

Базальный уровень экскреции катехоламинов с мочой.

□ - норадреналин.

▨ - адреналин.

Здесь и в другой таблице и рисунках достоверность отличий от контроля:

\* -  $p < 0,05$  по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

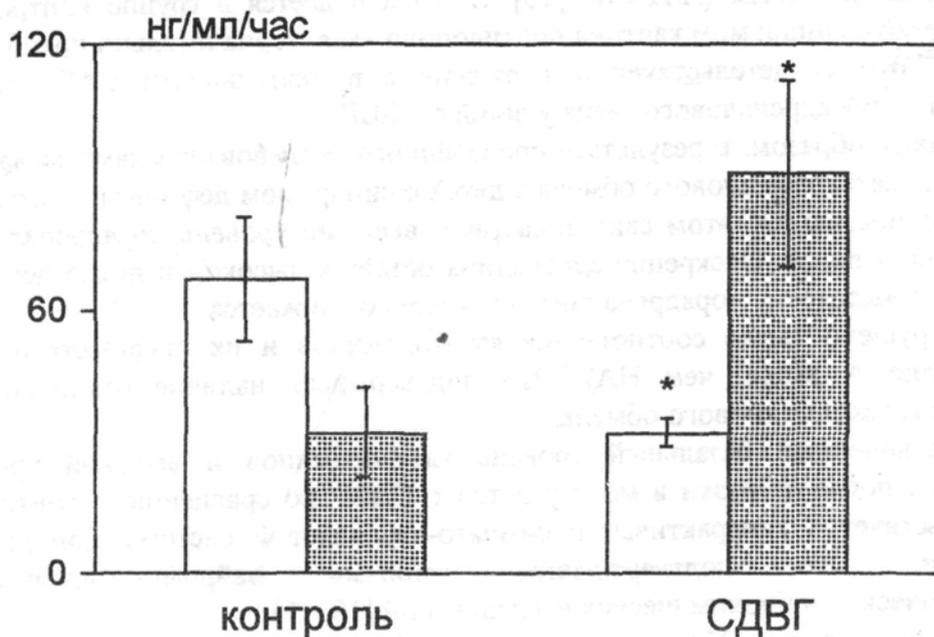


Рисунок 2.

Влияние эмоциональной нагрузки на экскрецию катехоламинов с мочой.

□ - норадреналин.

▒ - адреналин.

В группе СДВГ выделение катехоламинов наоборот снизилось в ответ на нагрузку: НА – в 2,3 раза, А – в 1,5 раза. Однако уровень адреналина всё равно оставался в 2,8 раза выше, чем в контроле (см. табл.).

Помимо отклонений в динамике, выявлены нарушения базальной экскреции катехоламинов. В группе СДВГ экскреция НА и А в покое была выше – в 2,8 и 7,8 раз - по сравнению с контролем.

Соотношение А/НА (см. табл.) было использовано для косвенной оценки состояния фенолэтаноламин-N-метилтрансферазы, катализирующей биосинтез А из НА [15, 16]. Данные, представленные в таблице, свидетельствуют о более высокой метилтрансферазной активности в группе СДВГ – в 2,8 раза выше по сравнению с контролем.

Таблица. Экскреция катехоламинов с мочой у детей.

Показатели (нг/мл/час)	Контроль n=10		СДВГ n=15	
	до нагрузки	После	до нагрузки	после
НА	26 ± 8	67 ± 14	72 ± 27*	32 ± 3*
А	18 ± 5	32 ± 10	140 ± 21*	91 ± 19*
А/НА	0,69	0,48	1,95	2,84

Кроме того, соотношение А/НА является косвенным показателем соотношения активности гормонального и медиаторного звеньев симпатoadrenalовой системы. В 7-10 лет характерно преобладание медиаторного звена

САС над адреналовым (А/НА<1) [16]. Это наблюдается в группе контроля. В группе детей с синдромом картина противоположная: А значительно преобладает над НА. Это свидетельствует о нарушениях в деятельности САС. Налицо гиперактивация адреналового звена у детей с СДВГ.

Таким образом, в результате проведённого исследования нами выявлены нарушения катехоламинового обмена у детей с синдромом дефицита внимания и гиперактивностью. Об этом свидетельствует высокий уровень норадреналина и адреналина в покое. Экскреция адреналина остаётся высокой и после действия нагрузки, а выделение норадреналина значительно снижается.

Нарушено также соотношение катехоламинов и их предшественников (содержание А выше, чем НА). Это подтверждает наличие отклонений в динамике катехоламинового обмена.

Повышенный базальный уровень катехоламинов и высокий уровень адреналина после нагрузки в моче у детей с СДВГ по сравнению с контролем свидетельствует о гиперактивации симпато-адреналовой системы при данной патологии. Это подтверждается данными нейрофизиологических, психологических и биохимических исследований [10, 15].

Низкий уровень НА в моче у детей с СДВГ после нагрузки, возможно, свидетельствует об истощении депо катехоламинов мозгового слоя надпочечников, что доказывается и другими исследователями как при СДВГ, так и при гиперкинезах другой природы [17].

Таким образом, изучение экскреции катехоламинов с мочой за 1,5 часа в ответ на эмоциональную нагрузку может являться объективным методом диагностики СДВГ.

#### ЛИТЕРАТУРА.

1. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV), 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
2. World Health Organization. (1992) The Tenth Revision of the International Classification of Diseases and Related Health Problems. - Geneva.
3. *Elia J., Ambrosini P.J., Rapoport J.L.* (1999) *New Engl. J. Med.* **340**, 780-788.
4. *Barkley R.A.* (1997) *Psych.Bull.* **121**, 65-94.
5. *Castellanos F.X.* (1997) *Clinical Pediatrics.* **36**, 381-393.
6. *Zametkin A.J., Rapoport J.L.* (1984) *J.Am.Acad. Child Adolesc. Psychiatr.* **26**, 676-687.
7. *Pliszka S.R., Maas J.W.* (1994) *J.Am.Acad. Child Adolesc. Psychiatr.* **33**, 1165-1173.
8. *Rapoport J.L., Mikkelsen E.J. et al.* (1978) *J. Nerv. Ment. Dis.* **66**, 731-737.
9. *Moskowitz M.A., Wurtman R.J.* (1975) *New England J. Medicine.* **293**, 274-280.
10. *Pliszka S.R., Maas J.W., McCracken J.T.* (1996) *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatr.* **35**, 264-272.

11. *Кучма В.Р., Платонова А.Г.* (1997) Дефицит внимания с гиперактивностью у детей России. Распространённость, факторы риска и профилактика. М.: РАРОГЪ, 39-41.
12. *Сидоренко Е.В.* (1996) Методы математической обработки в психологии – М.: Высшая школа.
13. *Dienstbier R.A.* (1989) *Psychol Rev.* **96**, 84-100.
14. *Maas J.W., Leckman J.F.* (1983) In *MHPG: Basic Mechanisms and Psychopathology*, (Maas J.W., ed.) London, Academic Press, pp.33-44.
15. *Узбеков М.Г., Мисионжик Э.Ю., Маринчева Г.С., Красов В.А.* (1998) *Российский психиатрический журнал.* №6, 39-43.
16. *Бегайдарова Р.Х., Коршунов М.Ф.* (1979) *Здравоохранение Казахстана.* №5, 42-44.
17. *Антонов И.П., Шанько Г.Г.* (1975) *Гиперкинезы у детей. Вопросы этиологии, патогенеза, лечения.* Минск: Наука, с. 159-160.

Поступила 11.10.99

#### RESEARCH OF CATECHOLAMINE METABOLISM PECULIARITIES OF THE CHILDREN WITH ATTENTION DEFICIT HYPERACTIVITY DISORDER.

H.V. KASATIKOVA<sup>1</sup>, N.P. LARIONOV<sup>1</sup>, H.V. POPKOVA<sup>2</sup>, I.P. BRIAZGUNOV<sup>3</sup>

The aim of research was to study catecholamine excretion peculiarities of the children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). 25 children at the age of 7-9 years took part in this research. High-pressure liquid chromatography (HPLC) was used for measuring the content of catecholamine.

The content of catecholamine was defined in the morning samples of urine.

The examination showed, that ADHD children had the basal level of epinephrine and norepinephrine more than the normal control in 3,9 and 5,4 times.

After cognitive tests the content of norepinephrine reduced in the ADHD group in 2,1 times in the comparison with normal control. On the contrary content of epinephrine increased in 2,8 times.

Conclusion: Simpatico-adrenal system hyperactivity (especially it's adrenals component) characterized ADHD children.

**Key words:** catecholamines, Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), high-pressure liquid chromatography (HPLC).