

УДК 616-053.31:616.831.38-002-005.1

©Коллектив авторов

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫМИ КРОВОИЗЛИЯНИЯМИ

*Е.В. Михалев¹, Г.П. Филиппов¹, Е.А. Степовая¹, Л.П. Смирнова², В.А. Желев¹,
М.Г. Елизарова¹, С.П. Ермоленко¹*

¹Кафедра госпитальной педиатрии, кафедра биохимии и молекулярной биологии
Сибирского государственного медицинского университета, 634050, Томск,
Московский тракт, 2, тел. (3822) 53-04-48; эл. почта: michalev@rambler.ru

²ГУ НИИ Онкологии ТНЦ СО РАМН, 634009, пер. Кооперативный, 5, Томск

Исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы эритроцитов крови у 49 недоношенных новорожденных при сроке гестации 28-36 недель. 1 группу составили 10 недоношенных новорожденных в удовлетворительном состоянии. 2 группа – 26 недоношенных новорожденных с внутрижелудочковыми кровоизлияниями I-III степени. 3 группа - 13 недоношенных новорожденных с внутрижелудочковыми кровоизлияниями, осложнившимися гнойным менингитом. При возникновении бактериальной инфекции оболочек головного мозга обнаружено выраженное снижение активности супероксиддисмутазы и каталазы эритроцитов крови, что является дополнительным диагностическим критерием развития инфекционного процесса. Стандартная терапия не восстанавливает активность основных ферментов антиоксидантной защиты к концу неонатального периода.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, каталаза, недоношенные новорожденные, внутрижелудочковые кровоизлияния, гнойный менингит.

ВВЕДЕНИЕ. Внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) у недоношенных новорожденных являются частой причиной летальных исходов, а также психоневрологических расстройств и ранней инвалидизации в детском возрасте. У недоношенных новорожденных с гестационным возрастом до 32 недель и с массой тела менее 1500 г ВЖК встречаются в 50%, а с массой меньше 1000 г до 75-80% случаев [1-4]. Тяжесть прогноза усугубляется, если ВЖК осложняются гнойными менингитами. Свободнорадикальные повреждения очень часто могут лежать в основе патобиохимических механизмов развития различных заболеваний у недоношенных новорожденных. Роль свободнорадикального окисления в развитии ВЖК также велика [5,6]. Жизнеспособность клетки и устойчивость её к действию активных форм кислорода (АФК) определяется сбалансированным соотношением основного антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.1) и фермента метаболизирующего пероксид водорода – каталазы (КТ; КФ 1.11.1.6). Изменение активности СОД и КТ отражает состояние ранней биохимической предпатологии, что позволяет использовать их определения в качестве диагностического теста при различных заболеваниях новорожденных [7, 8].

Целью настоящего исследования явилось изучение активности СОД и каталазы в эритроцитах у недоношенных новорожденных с внутрижелудочковыми кровоизлияниями неосложненными и осложненными бактериальной инфекцией оболочек головного мозга.

МЕТОДИКА. Обследовали 49 недоношенных новорожденных со сроком гестации 28-37 недель. Контрольную группу составили 10 недоношенных новорожденных (1 группа) при сроке гестации 35-37 недель в удовлетворительном состоянии.

26 недоношенных новорожденных (2 группа) имели неосложненные внутрижелудочковые кровоизлияния (рубрикация P.52.0-P.52.2 по МКБ 10): из них ВЖК I ст. – 14 детей, ВЖК II ст. – 8 и ВЖК III ст. – 4 новорожденных.

У 13 недоношенных новорожденных ВЖК осложнились поздними гнойными менингитами (3 группа): ВЖК I ст. – 3 детей, ВЖК II ст. – 4, ВЖК III ст. – 6. Хроническую внутриутробную гипоксию плода перенесли все новорожденные 2 и 3 группы, острую асфиксию в родах – 14 (53,8%) детей 2 группы и 10 (76,9%) детей 3 группы. В каждом случае диагноз выставлен на основании данных анамнеза, динамической оценки неврологического и соматического статуса, нейросонографических данных и показателей люмбальной пункции. Диагноз гнойного менингита, как осложнения ВЖК был выставлен на 4-7 сутки жизни.

Все дети получали стандартную базисную терапию: поддержание оптимальной температуры и влажности окружающей среды, респираторную, антибактериальную, инфузионную, заместительную и посиндромную терапию.

Забор крови у недоношенных новорожденных проводили из локтевой вены на 1, 4-7, 15-28 сутки жизни. Активность СОД в эритроцитах определяли по скорости ингибирования восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в системе ксантин-ксантиноксидаза, являющегося источником супероксидного радикала, по методике, описанной Л.С. Вартанян и С.М. Гуревич и др. [9]. Реакционная смесь содержала растворы карбоната натрия – 50 мМ, этилендиаминтетрауксусная кислота – 0,1 мМ, НСТ – 37,5 мкМ в 50 мМ фосфатном буфере pH 10,2 и 0,1 мМ раствор ксантина в 0,5 М NaOH. После добавления ксантиноксидазы (0,05 единиц активности на пробу) регистрировали изменение оптической плотности в течение 3 минут при длине волны 560 нм и в дальнейшем использовали эту кинетическую кривую для определения начальной скорости восстановления НСТ без СОД. Затем в ту же кювету добавляли образец, содержащий СОД, и также в течение 3 минут регистрировали изменение оптической плотности во времени, связанное с восстановлением НСТ в присутствии СОД.

Активность КТ определяли спектрофотометрически по методу [10] на спектрофотометре “DU-8B” (“Beckman”, США) с модулем “KINETICS II” по изменению концентрации перекиси водорода при добавлении исследуемого образца. В среду инкубации, содержащую 30 мМ перекиси водорода в 50 мМ фосфатном буфере (pH 7,0), добавляли гомогенат эритроцитов и регистрировали изменение оптической плотности при длине волны поглощения 240 нм в течение 3-5 минут.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакета программ Statistica 5.0 (StatSoft, Ink.). Проверку нормальности распределения выборок проводили с помощью W-критерия Шапиро-Уилки. Для каждого показателя в группах наблюдений вычисляли: среднее значение \pm ошибку средней. Достоверность различия оценивали, используя непараметрический U-критерий Манна-Уитни [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Активность СОД у недоношенных новорожденных 2 группы на 1 сутки жизни была в 2 раза ниже ($p < 0,001$), чем у детей 1 группы (таблица). У недоношенных новорожденных 3 группы было выявлено снижение активности СОД в 2,3 раза ($p < 0,001$) по отношению к 1 группе. Активность КТ в 2 и 3 группах также была снижена соответственно в 2,1 ($p < 0,001$) и 2,5 раза ($p < 0,001$). Такое снижение активности ферментов антиоксидантной

защиты (АОЗ), по-видимому, связано с тем, что недоношенные новорожденные с ВЖК перенесли хроническую внутриутробную гипоксию плода и острую асфиксию в родах.

Таблица. Активность СОД и КТ в эритроцитах у недоношенных новорожденных 1 группы, с неосложненными внутрижелудочковыми кровоизлияниями (2 группа) и осложненными гнойными менингитами (3 группа) (ммоль/мин·мг белка).

Показатели	1 группа (n=10)	2 группа (n=26)	3 группа (n=13)
1 сутки жизни			
Супероксиддисмутаза	2,79±0,07	1,36±0,09 ^{***}	1,19±0,14 ^{***}
Каталаза	2,23±0,05	1,04±0,13 ^{***}	0,91±0,09 ^{***}
4-7 сутки жизни			
Супероксиддисмутаза	2,32±0,04	1,44±0,11 ^{***}	0,98±0,11 ^{***#}
Каталаза	2,68±0,19	1,33±0,12 ^{***}	0,92±0,11 ^{***##}
15-28 сутки жизни			
Супероксиддисмутаза	3,04±0,11	2,34±0,14 ^{**}	2,19±0,12 ^{***}
Каталаза	3,12±0,25	1,89±0,18 ^{***}	1,52±0,13 ^{***}

Примечание: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ достоверность различий в сравнении с 1 группой; # - $p < 0,05$, ## - $p < 0,01$, достоверность различий в сравнении со 2 группой.

Активность СОД и КТ эритроцитов у недоношенных новорожденных 2 группы на 4-7 сутки жизни была ниже в 1,6 раза ($p < 0,001$) и в 2 раза ($p < 0,001$) соответственно, чем в 1 группе. У недоношенных новорожденных 3 группы было выявлено снижение активности СОД и КТ в 2,4 ($p < 0,001$) и 2,9 раза ($p < 0,001$) соответственно.

На 15-28 сутки жизни было отмечено повышение активности СОД и КТ эритроцитов недоношенных новорожденных с неосложненными ВЖК и осложненными гнойным менингитом по сравнению с 4-7 сутками жизни. Однако активность СОД недоношенных новорожденных 2 группы оставалась достоверно сниженной по отношению к 1 группе в 1,3 раза ($p < 0,01$), а КТ – в 1,6 раза ($p < 0,001$). У недоношенных новорожденных 3 группы отмечалось снижение активности СОД и КТ в 1,4 ($p < 0,001$) и 2 раза ($p < 0,001$) соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Исследование активности антиоксидантных ферментов у недоношенных новорожденных может стать важным дополнительным показателем общей резистентности организма. Уменьшение активности ферментов АОЗ эритроцитов крови у недоношенных новорожденных с ВЖК способствует усугублению гипоксии тканей, развитию энергетической недостаточности с вторичным повреждением мембран клеток, в том числе и головного мозга. Бактериальная инфекция оболочек головного мозга на фоне ВЖК усугубляет данный процесс. Установленный факт длительно сохраняющихся нарушений ферментов АОЗ у недоношенных новорожденных с неосложненными ВЖК и осложненными гнойными менингитами, может служить показанием для назначения длительное время в составе комплексной терапии антиоксидантов.

Исследования проводились при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 04-06-80413 а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шабалов Н.П., Любименко В.А., Пальчик А.Б., Ярославский В.К. (1999) Асфиксия новорожденных. М.: МЕДпресс, с. 103-104.
2. Бараашнев Ю.И. (2001) Перинатальная неврология. – М., с. 273-278.
3. Бараашнев Ю.И. (2000) Акушерство и гинекология, №5, 39-42.
4. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. (2000) Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. Питер. Санкт-Петербург, с. 85-88.
5. Lackmann G.M., Hesse L., Tollner U. (1996) Free. Radic. Biol. Med., **20**, 3, 407-409.
6. Бараашнев Ю.А. (2000) Рос. вестн. перинатол. и педиатр., №4, 39-42.
7. Литвиненко Л.А., Данилова Л.А., Шабалов Н.П. (2002) Вопр. мед. химии, **48**, 513-518.
8. Каганова Т.И., Садовский К.М. (1991) Вопросы охр. материнства и детства, **8**, 6-9.
9. Вартанян Л.С., Гуревич С.М. и др. (1982) Вопросы мед. химии, **28(5)**, 23-56.
10. Beers R.F., Sizer J.W. et al., (1952) J. Biol. Chem. **195**, 133-140.
11. Лакин Г.Ф. (1990) Биометрия. М.

Поступила: 22. 12. 2003.

SUPEROXIDE DISMUTASE AND CATALASE ACTIVITY ERYTHROCYTES CHANGE IN PREMATURE NEWBORNS WITH INTRAVENTRICULAR HAEMORRHAGES

*E.V. Mikchalev¹, G.P. Philippov¹, E.A. Stepovaya¹, L.P. Smirnova², V.A. Zhelev¹,
M.G. Elisarova¹, S.P. Ermolenko¹*

¹Siberian State Medical University, Moscovsky Trakt, 2, Tomsk, 634050 Russia; tel.: (8382) 53-04-48;
e-mail: michalev@rambler.ru

²Research Institute of Oncology, Siberian Division of Tomsk Research Center of Russian
Academy of Medical Sciences, Kooperativny per., 5, Tomsk, 634009 Russia

Superoxide dismutase and catalase activities have been studied in peripheral blood erythrocytes of 49 premature newborns at 28-37 weeks gestation. Superoxide dismutase and catalase activities were lower in patients with bacterial infection of meninges. The standard therapy did not restore superoxide dismutase and catalase activities by the end of the neonatal period.

Key words: superoxide dismutase, catalase, premature newborns, intraventricular haemorrhages, purulent meningitis.