

## Особенности ферментного статуса лимфоцитов крови новорожденных детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития

В.П. Новицкая, В.Л. Грицинская

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск

## Specific features of the lymphocyte enzyme status in newborn infants with the hypotrophic type of intrauterine growth retardation

V.P. Novitskaya, V.L. Gritskinskaya

Research Institute for Medical Problems of the North, Krasnoyarsk

**Цель исследования:** выявить особенности ферментного статуса лимфоцитов крови новорожденных детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития в условиях Якутии.

Обследованы 137 доношенных новорожденных детей пришлого населения г. Якутска в 1, 3 и 5-е сутки жизни, из них 28 детей с задержкой внутриутробного развития. Проведен анализ цитохимической активности ферментов лимфоцитов крови с определением уровня и динамики сукцинатдегидрогеназы (СДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и ее аэробного изофермента (Н-ЛДГ), НАДФ.Н2-диафоразы, моноаминоксидазы (МАО) и кислой фосфатазы (КФ). Установлено, что у детей с задержкой внутриутробного развития в лимфоцитах крови повышена активность СДГ, ГФДГ, ЛДГ на 5-е сутки жизни и снижена активность НАДФ.Н2-диафоразы в сравнении со здоровыми новорожденными. В динамике раннего онтогенеза установлена десинхрония метаболических путей. Необходимо с учетом выявленных особенностей метаболизма у детей с задержкой внутриутробного развития в условиях Якутии проводить рациональную коррекцию стандартных схем лечения.

**Ключевые слова:** новорожденные дети, задержка внутриутробного развития, ферменты, лимфоциты, Якутия.

**Objective:** to reveal the specific features of the lymphocyte enzyme status in newborn infants with hypotrophic type of intrauterine growth retardation under the conditions of Yakutia.

**Subjects and methods.** A total of 137 full-term newborns (including 28 babies with intrauterine growth retardation) whose parents were Yakutsk newcomers were examined on 1, 3 and 5 days of life. The cytochemical activity of lymphocyte enzymes, by determining the level of and time course of changes in succinate dehydrogenase (SDH), glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH), lactate dehydrogenase (LDH) and its aerobic isoenzyme (LDH-H), NADPH<sub>2</sub>-diaphorase, monoamine oxidase (MAO), and acid phosphatase (AP), were analyzed.

**Results.** It was ascertained that the activity of SDH, GPDH, and LDH was higher on 5 day of life and that of NADPH<sub>2</sub>-diaphorase was lower in infants with intrauterine growth retardation than in apparently healthy neonates. Desynchronization of the metabolic pathways was established in the dynamics of early ontogenesis.

**Conclusion.** It is necessary to rationally correct standard treatment regimens, by taking into account the found metabolic features in infants with intrauterine growth retardation under the conditions of Yakutia.

**Key words:** newborn infants, intrauterine growth retardation, enzymes, lymphocytes, Yakutia.

Нарушение внутриутробного роста и развития плода остается одной из актуальных проблем акушерства и перинатологии. Значимость задержки внутриутробного развития определяется ее большим удельным весом в структуре перинатальной смертности и заболеваемости новорожденных, а также неблагоприятным медико-биологическим и социальным прогнозом в будущем [1–5].

Термин «задержка внутриутробного развития» используют для обозначения хронического расстройства питания плода, сопровождающегося отставанием его внутриутробного развития, физиче-

ских параметров, клинической и функциональной незрелостью ряда органов и систем, снижением иммунологической реактивности и метаболическими расстройствами. Принято выделять три клинических варианта задержки внутриутробного развития [2]: гипотрофический, гипопластический и диспластический. В англоязычной литературе вместо термина «гипотрофический вариант» используют понятие «асимметричная задержка внутриутробного развития», а гипопластический и диспластический варианты объединяют понятием «симметричная задержка внутриутробного развития».

Гипотрофический вариант характеризуется практически нормальным ростом скелета и головы, но снижением в различной степени количества подкожного жира и мышечной массы. Полагают, что подобный вариант формируется на более поздних сроках беременности. Дети с данным вариантом задержки внутриутробного развития имеют высокий риск ранних осложнений в неонаталь-

© Коллектив авторов, 2016

Ros Vestn Perinatol Pediat 2016; 3:46–50

DOI: 10.21508/1027–4065–2016–61–3–46–50

Адрес для корреспонденции: Новицкая Валентина Петровна – д.б.н., ст. н. сотр. лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем севера

Грицинская Вера Львовна – д.м.н., гл. н. сотр. той же лаборатории 660022 Красноярск, ул. Партизана Железняка, д.3«Г»

ном периоде [2–5]. По мнению ряда авторов, дети с гипотрофическим вариантом склонны к большей потере первоначальной массы тела и более медленному ее восстановлению, затяжной транзиторной желтухе новорожденных, медленному заживлению пупочной ранки после отпадения пуповинного остатка. У детей также отмечаются гормонально-метаболические нарушения: гипогликемия, гипокальциемия, гипомагниемия, динамические изменения содержания тиреотропного, тиреоидных гормонов и кортизола в крови [4].

Несмотря на многообразие этиологических факторов, вызывающих развитие задержки внутриутробного развития, основой ее патогенеза является хроническая стрессовая реакция [5]. Следствием хронического стресса неизбежно служит изменение активности ряда систем, обеспечивающих поддержание гомеостаза, и в первую очередь иммунной, информативным показателем состояния которой являются параметры ферментного метаболизма лимфоцитов периферической крови [6, 7]. Изменения ферментных показателей свидетельствуют о повреждении конкретного звена в цепи обменных процессов не только самих клеток, но и внутренних органов, в связи с чем эти показатели с успехом используются для оценки ранних метаболических сдвигов и патологических отклонений в состоянии новорожденных детей [6, 8]. Учитывая, что публикаций, посвященных метаболической характеристике новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в условиях Севера, недостаточно [8], мы провели настоящее исследование.

**Цель исследования.** Выявить особенности возрастной динамики ферментного статуса лимфоцитов новорожденных детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития в условиях Якутии.

### Характеристика детей и методы исследования

Исследования проведены в зимний период года в г. Якутске. Методом случайной выборки в исследование включены 137 доношенных новорожденных детей пришлого населения Севера. Обследование детей проводили по согласованию с администрацией родильных домов при подписании родителями информированного согласия. Исследования соответствовали этическим и правовым стандартам и были одобрены комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ МПС». Обязательным критерием включения в исследование было отсутствие осложнений в акушерском анамнезе у матерей и отклонений в состоянии новорожденных детей (оценка по шкале Апгар 8–10 баллов).

Проведено интервьюирование женщин с помощью разработанной нами анкеты, в которой особое внимание уделено характеру работы матери до беременности и во время нее, отсутствию вредных производственных факторов. Дополнительные сведения

получены из историй родов и карт развития новорожденного. Обследование детей осуществляли в 1, 3, 5-е сутки жизни. Дети были разделены на две группы: основная группа – 28 детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития; группа сравнения – 109 новорожденных с нормальными массоростовыми показателями. Диагностика задержки внутриутробного развития проведена на основании величины массоростового коэффициента ( $< 59$ ).

Каждая группа новорожденных была разделена на три подгруппы: в первую включали детей 1-х суток жизни, во вторую – 3 сут жизни и в третью – 5 сут жизни, поскольку не всегда имелась возможность проведения персонифицированной динамики. Критерием исключения из исследования были отклонения в состоянии детей и вакцинация БЦЖ.

Для оценки функционального состояния лимфоцитов проводился цитохимический анализ активности ферментов-маркеров метаболических путей: цикла Кребса (сукцинатдегидрогеназа; СДГ); глицерофосфатного шунта, соединяющего гликолиз с циклом Кребса (глицерол-3-фосфатдегидрогеназа митохондриальная; ГФДГ), гликолиза (лактатдегидрогеназа; ЛДГ и ее аэробный изофермент; Н-ЛДГ) и фермента восстановительного синтеза (НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафораза) [9]. Для суждения об активности аминоксидазного пути окисления моноаминов определяли моноаминоксидазу (МАО) [10], для оценки катаболического пути обмена в лимфоцитах – фермент лизосомнеспцифическую кислую фосфатазу (КФ) [11]. Активность дегидрогеназ и МАО выражали количеством гранул формазана в 1 клетке – гр/кл, а активность КФ – индексом Карлов [12].

Полученные результаты обработаны с помощью стандартной лицензионной программы Statistica v. 6.1. Достоверность различий определяли с использованием критерия Стьюдента при критическом уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде средней величины, а также стандартной ошибки средней арифметической ( $M \pm m$ ).

### Результаты и обсуждение

В экологических условиях Якутии у новорожденных, независимо от массоростовых характеристик, в лимфоцитах определяется более низкая средняя активность митохондриальных ферментов (СДГ и ГФДГ) по сравнению с данными исследований, проведенных в средней полосе европейской части РФ [6]. Выявлены особенности ферментного метаболизма лимфоцитов периферической крови у новорожденных детей с различными массоростовыми показателями. Так, в 1-е сутки жизни у обследованных детей с задержкой внутриутробного развития (см. таблицу) в лимфоцитах была снижена активность ферментов энергетического обмена – ГФДГ (на 46,8%;  $p < 0,05$ ), ЛДГ (на 67,1%;  $p < 0,001$ ) и Н-ЛДГ (на 54,1%;  $p < 0,01$ ), но повышена активность фермен-

та пластического обмена – НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы (на 77,9%;  $p<0,001$ ) относительно показателей детей группы сравнения.

На 3-и сутки жизни у новорожденных основной группы была снижена активность – Н-ЛДГ, НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы и МАО в среднем на 20% ( $p<0,05$ ), но повышена активность ГФДГ в 2,2 раза ( $p<0,01$ ) относительно показателей в группе сравнения. На 5-е сутки жизни у детей с задержкой внутриутробного развития в лимфоцитах снижена активность Н-ЛДГ, НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы (в среднем на 20%;  $p<0,05$ ), что характеризует ингибирование реакций аэробного гликолиза и макромолекулярного синтеза. В то же время была повышена активность ферментов митохондрий (СДГ – на 31,5%, ГФДГ – в 2 раза) и активность реакций анаэробного гликолиза – повышение уровня ЛДГ на 47,7% ( $p<0,01$ ) относительно показателей у детей группы сравнения.

В период новорожденности значительной величины достигала фракция ЛДГ, не чувствительная к действию мочевины, – Н-ЛДГ. Однако у детей основной группы доля Н-ЛДГ от ЛДГ в 1, 3 и 5-е сутки жизни была ниже (34, 36, 25%), чем у детей группы сравнения (43, 40, 47% соответственно). Следует отметить, что у детей, родившихся в умеренных широтах, эта фракция составляла менее 20% [6].

Нами выявлена разнонаправленность возрастной динамики показателей активности митохондриальных ферментов. Так, у новорожденных основной группы активность СДГ повышалась к 5-м суткам жизни на 61,9% относительно показателей в 1-е сутки жизни ( $p<0,01$ ), а у детей группы сравнения этот показатель оставался без динамики. Показатель активности ГФДГ у детей с задержкой внутриутробного развития колебался, возрастая к 3-м суткам жизни в 4 раза ( $p<0,001$ ) и снижаясь к 5-м суткам жизни на 60,6% ( $p<0,05$ ) относительно показателей в 1-е сутки жизни. В группе сравнения активность этого фермента к 5-му дню жизни ребенка снижалась на 58,1% по сравнению с уровнем в 1-е сутки жизни ( $p<0,05$ );

по данным литературы, отмечено увеличение активности ГФДГ на 3-и и 5-е сутки жизни относительно показателей при рождении [6].

Кроме того, у новорожденных основной группы выявлено повышение активности гликолитических энзимов (ЛДГ, Н-ЛДГ) в 1,5–2 раза к 5-м суткам жизни. У детей группы сравнения показатели данных энзимов оставались без динамики за время наблюдения; а у детей, обследованных в европейской части РФ, было отмечено снижение их активности на 5-е сутки жизни [6]. По сведениям литературы, выявленные у новорожденных с задержкой внутриутробного развития нарушения клеточной энергетики могут привести к нарушению функционирования и повреждению наиболее энергозависимых систем организма: эндокринной, нервной и мышечной [13, 14].

У детей с задержкой внутриутробного развития, родившихся в Якутии, на 5-е сутки жизни активность НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы снижалась в 2,4 раза ( $p<0,001$ ) относительно ее значений в 1-е сутки жизни, что характеризует ингибирование синтетических реакций в лимфоцитах крови. В группе сравнения у детей в первые 5 сут жизни уровень НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы не менялся; у детей, родившихся в средних широтах, наблюдалось повышение показателя с возрастом [6]. Активность МАО в лимфоцитах новорожденных основной группы повышалась с 1-х на 5-е сутки жизни в 1,5 раза ( $p<0,05$ ). В группе сравнения уровень оставался низким (в среднем 2,66 гр/кл) и не изменялся в первые 5 дней жизни. Повышение активности этого фермента в лимфоцитах детей с задержкой внутриутробного развития свидетельствует о накоплении продуктов моноаминоксидазной реакции, таких как альдегиды, аммиак и перекись водорода, что вызывает дополнительное усиление процессов перекисного окисления липидов и соответственно увеличение деструктивных изменений в клетках крови. У новорожденных всех групп г. Якутска в лимфоцитах была выявлена высокая активность КФ,

Таблица. Активность ферментов ( в гр/кл) в лимфоцитах новорожденных детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития в г. Якутске ( $M\pm m$ )

Показатель	Основная группа			Группа сравнения		
	1-е сутки жизни (n=10)	3-и сутки жизни (n=9)	5-е сутки жизни (n=9)	1-е сутки жизни (n=40)	3-и сутки жизни (n=37)	5-е сутки жизни (n=32)
СДГ	8,83±0,72	7,92±0,1	14,3±0,1**	10,01±0,9	8,73±0,96	10,87±0,01
ГФДГ	1,45±0,28**	6,07±0,2**	3,68±0,13*	3,1±0,49	2,78±0,43	1,8±0,14
ЛДГ	5,74±1,12	7,36±0,11	12,05±0,15*	8,56±0,91	8,59±0,8	8,16±0,87
Н-ЛДГ	1,97±0,86	2,67±0,1	3,04±0,04	3,64±0,39	3,43±0,53	3,82±0,58
НАДФ•Н <sub>2</sub> -диафоараза	9,98±0,1	4,87±0,09	4,17±0,11	5,61±0,48	6,19±0,65	5,53±0,45
МАО	2,13±0,64	2,13±0,21	3,13±0,12	2,49±0,18	2,72±0,17	2,79±0,18
КФ, ед. Карлов	150,66±16,08	126±8,31	140±7,2	139,57±4,71	138,41±5,2	146,13±6,36

Примечание. Достоверность различий между основной группой детей и группой сравнения: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ .

превосходящая показатели у детей, родившихся в средних широтах. В каждой группе этот показатель оставался без динамики в первые 5 сут жизни.

### Заключение

У детей пришлого населения г. Якутска с задержкой внутриутробного развития выявленные особенности показателей активности ферментов в лимфоцитах в периоде новорожденности свидетельствуют о вероятном увеличении содержания в крови неблагоприятных факторов, изменении доступности субстратов и кофакторов вследствие нарушения проницаемости клеточных мембран, связанного со стрессиндуцированным повышением перекисного окисления липидов [4, 5]. Повышение уровня дегидрогеназ цикла Кребса и глицерофосфатного шунта, а также ЛДГ свидетельствует об гиперактивации клеточного метаболизма. Уменьшение активности НАДФ•Н<sub>2</sub>-диафоразы в значительной степени обуславливает снижение пластических процессов у детей с задержкой внутриутробного развития.

Высокий показатель КФ создает условия для нестабильности лизосом, являющихся метаболическим депо катаболических ферментов, способных лизировать клеточные органоиды и вести к прогрессированию патологического процесса. В качестве факторов, способных модифицировать активность ферментов при стресс-реакции, могут выступать глюкокортикоиды и катехоламины, содержание которых изменено у детей с задержкой внутриутробного развития [4].

Таким образом, иммунокомпетентные клетки новорожденных детей пришлого населения Якутии в зависимости от массоростовых характеристик перестраивают свой метаболизм, изменяя активность ферментов в циклах аэробного и анаэробного высвобождения энергии и реакций пластического обмена. В динамике раннего неонатального периода выявляется десинхрония метаболических путей, что отражает десинхроноз в системе «мать—ребенок». Выявленные особенности метаболических показателей клеток иммунной системы у детей в условиях Севера можно рассматривать как напряжение реакций метаболической адаптации на воздействие экологии региона. Это напряжение особенно выражено в группах детей с задержкой внутриутробного развития.

### Выводы.

1. Выявленные особенности показателей ферментов у новорожденных с задержкой внутриутробного развития в Якутии указывают на активацию основного энергообмена в митохондриях и цитозоле и снижение активности пентозофосфатного цикла, что характеризует ингибирование соответствующих реакций макромолекулярного синтеза в лимфоцитах крови.

2. Отклонения ферментного статуса у новорожденных с задержкой внутриутробного развития свидетельствуют о неустойчивом равновесии гомеостаза, снижении компенсаторных возможностей организма детей и возможном срыве процессов адаптации.

### ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Баранов А.А. Состояние здоровья детей в Российской Федерации. Педиатрия 2012; 91: 3: 9-14. (Baranov A.A. The health status of children in the Russian Federation. *Pediatriya* 2012; 91: 3: 9-14.)
2. Шабалов Н.П. Задержка внутриутробного роста и развития. Неонатология. М: МЕД пресс-инфо 2009; 1: 88-109. (Shabalov N.P. Intrauterine growth and development. *Neonatology*. Moscow: MED press-info, 2009; 1: 88-109.)
3. James D.K. High Risk Pregnancy: Management Options (Hardcover). Elsevier Inc, 2006; 9: 8: 590-591.
4. Илатовская Д.В., Логвинова И.И. Гормональный статус новорожденных с задержкой внутриутробного развития. Системный анализ и управление в биомедицинских системах 2010; 9:1: 68-71. (Ilatovskaya D.V., Logvinova I.I. Hormonal status of newborns with intrauterine growth retardation. *Sistemnyj analiz i upravlenie v biomeditsinskih sistemah* 2010; 9:1: 68-71.)
5. Неудахин Е.В. Клинико-метаболические и генетические аспекты гипотрофии у новорожденных и детей раннего возраста. Лекции по педиатрии 2001; 352. (Neudakhin E.V. Clinical and metabolic and genetic aspects of malnutrition in infants and young children. *Lectures on Pediatrics* 2001; 352.)
6. Петричук С.В., Шищенко В.М., Измайлова Т.Д., Семенова Г.Ф., Писарева И.В., Поляков С.Д., Корнеева И.Т. Диагностические и прогностические возможности клинической цитохимии. Методическое пособие для врачей. М, 2005; 74. (Petrichuk S.V., Shishchenko V.M., Izmajlova T.D., Semenova G.F., Pisareva I.V., Polyakov S.D., Korneeva I.T. Diagnostic and prognostic possibilities of Clinical Cytochemistry. *Methodical manual for doctors*. Moscow 2005; 74.)
7. Новицкая В.П., Прахин Е.И. Изменение показателей метаболизма лимфоцитов в процессе семимесячной витаминизации у детей. *Вопр дет диетол* 2011; 9: 6: 49-52. (Novitzkaya V.P., Prakhin E.I. Changes in metabolism of lymphocytes in seven months vitaminisation in children. *Vopr det dietol* 2011; 9: 6: 49-52.)
8. Усынина А.А., Усынин М.В. Факторы риска перинатальной патологии, состояние здоровья новорожденных детей в условиях Европейского Севера. Экология человека 2001; 1: 43-46. (Usynina A.A., Usynin M. V. Risk factors for perinatal diseases, the health of newborn children in conditions of the European North. *Ehkologiya cheloveka* 2001; 1: 43-46.)
9. Нарциссов Р.П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека. *Арх анат, гистол и эмбриол* 1969; 5: 85-91. (Narcissov R. P. Application of n-nitrotetrazolium violet for quantitative cytochemistry dehydrogenases human lymphocytes. *Arh anat, gistol ehmbriol* 1969; 5: 85-91.)
10. Кондратьева В.П., Эренбург Б.Е. Модификация методики цитохимического выявления моноаминоксидазы. *Лаб дело* 1981; 3: 167-169. (Kondratyeva V.P., Erenburg B.E.

Modification method histochemical detection of monoamine oxidase. *Lab delo* 1981; 3: 167–169.)

11. *Goldberg A., Barka T.* Acid phosphatase activity in human blood cell. *Nature* 1962; 195: 4838.
12. *Kaplow L.S.* A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. *Blood* 1955; 10: 1023.
13. *Сухоруков В.С.* Индивидуальные особенности энергообмена и их роль в развитии детских болезней. *Рос вестн перинатол и педиатр* 2011; 56: 2: 4–11. (*Suhorukov V.S.* Individual features of energy exchange and their role in the development of childhood diseases. *Ros vestn perinatol i pedi-atr* 2011; 56: 2: 4–11.)
14. *Неудахин Е.В., Морено И.Г., Гурьева Е.Н. и др.* Характер нарушений энергообмена клетки при хроническом стрессе у детей. *Рос вестн перинатол и педиатр* 2012; 57: 4 (2): 119–125. (*Neudakhin E.V., Moreno I.G., Guryeva E.N.* et al. Nature of abnormal cell energy metabolism in chronic stress in children. *Ros vestn perinatol i pediater* 2012; 57: 4(2): 119–125.)

Поступила 22.10.15