

УДК 616. 155. 194-053.2

С.Н. Давлатова, К.И. Исмаилов

ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЦИКЛА КРЕБСА В ЛИМФОЦИТАХ У ДЕТЕЙ С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ

Кафедра детских болезней №2 ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино»

Давлатова Сохира Нозировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских болезней №2 ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино»; Тел.: +(992)918790990

Цель исследования. Изучить особенности ферментативной активности цикла Кребса в лимфоцитах периферической крови у детей с железодефицитной анемией.

Материалы и методы исследования. Обследовано 54 ребёнка в возрасте от 2 до 15 лет, страдающих ЖДА разной степени тяжести. Изучены параклинические данные и ферментный статус лимфоцитов периферической крови.

Результаты исследования и их обсуждение. У детей, страдающих железодефицитной анемией выявлены характерные для ЖДА изменения со стороны лабораторных методов исследования: снижение сыровоточного железа, низкое содержание гемоглобина и эритроцитов, гипохромия эритроцитов, снижение среднего диаметра и среднего объёма эритроцитов, микроцитоз, пойкилоцитоз, гипо- и диспротеинемия. При анализе миелограммы обнаружены гипохромия эритроцитов и увеличение числа митозов красной крови (гиперплазия эритроидного ростка кроветворения).

Заключение. Результаты проведённых исследований ферментного статуса лимфоцитов крови свидетельствуют о депрессии активности внутриклеточных дегидрогеназ, которые обусловлены хронической гемической гипоксией и сидеропенией в организме детей. Глубина метаболических расстройств у больных детей была прямопропорциональна тяжести анемического процесса.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, гипоксия, дети, метаболические нарушения

S.N. Davlatova, K.I. Ismailov

FEATURES OF THE ENZYMATIC ACTIVITY OF THE KREBS PATHWAY IN LYMPHOCYTES IN CHILDREN WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA

Department of Children's Diseases №2 of SEI "Avicenna Tajik State Medical University"

Davlatova Sohira Nozirovna – Candidate of Medical Sciences; Assistant-professor of the Department of Pediatric Diseases №2 of SEI "Avicenna Tajik State Medical University".

Aim. To study the features of the enzymatic activity of the Krebs pathway in peripheral blood lymphocytes in children with iron deficiency anemia (IDA).

Material and methods. 54 children aged 2 to 15 years, suffering from IDA of varying severity were examined. Laboratory data and the cytochemical status of peripheral blood lymphocytes were studied.

Results and discussion. In children suffering from iron deficiency anemia, noticeable changes in laboratory research methods were found: reduction of serum iron, erythrocyte hypochromia, decrease in the average diameter and average volume of erythrocytes, microcytosis, poikilocytosis, hypo-, and dysproteinemia. When analyzing the myelogram, erythrocyte hypochromia and an increase in the number of mitoses of red blood (hyperplasia of the erythroid hematopoietic germ) was found. In addition, the study of the enzymatic status of blood lymphocytes revealed varying degrees of depression of the main enzymes of the Krebs pathway: succinate dehydrogenase (SDH) and alpha-glycerophosphate dehydrogenase (α -GPDH) depending on the severity of the anemic process.

Conclusion. The result of studies of the enzymatic status of blood lymphocytes indicates a decrease in the activity of intracellular dehydrogenases, which are caused by chronic hemic hypoxia and sideropenia in children. The depth of metabolic disorders in sick children was directly proportional to the severity of the anemic process.

Keywords: iron-deficiency anemia, hypoxia, children, metabolic disorders

Актуальность. В общей структуре гематологических заболеваний у детей по сей день главенствующая роль принадлежит именно железодефицитной анемии (ЖДА) – 70-75% среди всех анемий [1, 10]. К этому предрасполагают, как известно, анатомо-физиологические особенности растущего организма в целом и особенности обмена железа в частности. Дефицит железа занимает одно из ведущих мест среди микроэлементозов, но его частота по данным других исследователей несколько разноречива и до настоящего времени составляет от 17–20% до 47% среди населения всего земного шара [2, 11]. По данным И.С. Тарасовой, в детском возрасте ЖДА составляет 90% всех анемий [12, 13]. Согласно данным зарубежной литературы, более 30% подростков страдают дефицитом железа. Это время резко возрастающих потребностей в железе из-за бурного процесса роста, увеличения объема крови, увеличения мышечной массы [14-15]. ЖДА тяжелой степени, особенно у детей раннего и дошкольного возраста, способствует нарушению их роста и развития, и более чем в два раза повышает восприимчивость этих детей к инфекции [4].

К дыхательным феррофлавопротеидам относятся пероксидаза, каталаза, цитохромы, сукцинат-дегидрогеназа, глутатионоксидаза, альфа-глицерофосфатоксидаза. Вышеперечисленные ферменты способствуют разрушению липоперекисей, сохранению устойчивости эритроцитов к гемолизу, обеспечению всех видов внутриклеточного обмена и окислительного фосфорилирования, участвуют в регуляции проницаемости клеточных мембран. Следовательно, уменьшение концентрации железа в организме приводит к снижению активности железосодержащих и железозависимых ферментов, что способствует развитию дистрофических изменений в органах и тканях [1, 7].

Почти все железо в организме человека входит в состав различных белков и ферментов: около 70% общего количества железа входит в состав гемопротеинов, основным представителем которых является гемоглобин (58% железа). Также железо содержится в миоглобине (9%), цитохромах, пероксидазах, каталазах (до 4%) и ряде негемовых ферментов (ксантиноксидаза, НАДН-дегидрогеназа, аконитаза, трансферрин, лактоферрин).

Следствием хронического стресса неизбежно служит изменение активности ряда систем, обеспечивающих поддержание гомеостаза, и в первую очередь иммунной, информативным показателем состояния которой являются параметры фермент-

ного метаболизма лимфоцитов периферической крови [9]. 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 детей с различной соматической патологией [3, 9]

Для изучения интенсивности энергообмена используют показатели активности митохондриальных дегидрогеназ. Наиболее информативным и доступным морфологическим субстратом для изучения процессов энергообеспечения клетки являются лимфоциты периферической крови.

Лимфоцит циркулирующего пула относительно богат окислительно-восстановительными ферментами. Это клетка преимущественно с аэробным типом обмена. Среди большого количества дегидрогеназ, изучаемых цитохимическими методами, наибольшую популярность приобрели реакции на СДГ, альфа-ГФДГ, ЛДГ, а-ГФДМ, а-ГФДГ, Г-6-ФДГ и др.

Активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов отражает состояние энергообмена не только самих клеток, но и внутренних органов, особенно находящихся в состоянии напряжения или болезни; позволяет прогнозировать исход бактериальной и вирусной инфекции; дает возможность оценить эффективность лечения. Была доказана высокая диагностическая и прогностическая информативность активности митохондриальных дегидрогеназ при задержке внутриутробного развития плода, инфекционном мононуклеозе, у часто болеющих детей раннего возраста, atopическом дерматите, и детей с другими соматическими заболеваниями [5-9].

Митохондриальная дисфункция приводит к недостаточности энергообеспечения клеток, нарушению многих других важных обменных процессов, дальнейшему развитию клеточного повреждения, вплоть до гибели клетки [6, 9].

Цель исследования. Изучить особенности ферментативной активности цикла Кребса в лимфоцитах периферической крови у детей с железодефицитной анемией.

Материалы и методы исследования. С целью подтверждения взаимосвязей между лейкоцитарными ферментами и основными гематологическими параметрами ЖДА обследованию подвергнуты 54 ребёнка в возрасте от 2 до 15 лет. Дети страдали ЖДА разной степени тяжести и

находились на стационарном лечении в детском гематологическом отделении НМЦ РТ. Мальчиков было 25, девочек - 29. Средний возраст детей в момент обследования составлял $8,8 \pm 0,84$ лет. Контрольную группу составили 30 соматически здоровых детей, приравненные к ним по возрасту. Изучены лабораторные показатели, такие как: развёрнутый общий анализ крови, сывороточное железо, протеинограмма, морфология эритроцитов, фореграмма, а также костномозговое исследование. Для оценки клеточного метаболизма проведен количественный цитохимический анализ.

Статистическая обработка результатов исследования произведена с использованием критерия Стьюдента, достоверность различий определяли при постоянном заданном уровне надёжности ($P \geq 95$). Статистически достоверным считалось, когда возможность ошибок была меньше 5% или $P \geq 0,05$. Проведён корреляционный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение.

В общем развёрнутом анализе крови у детей с анемией лёгкой степени (10 детей) количество эритроцитов колебалось в пределах $2,9-3,9 \times 10^{12}/л$, гемоглобин составлял 90-105 г/л, цветной показатель – 0,7-0,8. У 2 больных выявлены незначительно выраженные анизоцитоз и пойкилоцитоз.

У детей с анемией средней тяжести (20 больных) число эритроцитов составляло $2,3-3,3 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 70-89 г/л, цветной показатель – 0,6-0,8. У 13 больных этой группы встречались умеренно выраженные анизо- и пойкилоцитоз эритроцитов.

Следует отметить появление в периферической крови юных клеток и миелоцитов у двух детей, что говорит о напряжённости эритропоэза.

У детей с ЖДА тяжёлой степени (24 пациента) наблюдались следующие изменения в периферической крови: эритроциты составили $1,7-2,7 \times 10^{12}/л$, гемоглобин – 40-69 г/л, цветной показатель – 0,5-0,7. Умеренно и значительно выраженные анизо- и пойкилоцитоз выявлены у преобладающего большинства детей (72%).

При анализе морфологии эритроцитов у детей с ЖДА были выявлены характерные изменения: снижение среднего содержания гемоглобина в одном эритроците ниже 29 Пг (91.9%), снижение среднего диаметра эритроцита - ниже 6,9 мкм, а также среднего объёма эритроцита (менее 75 мкм³). Микроцитоз составлял от 19 до 40%, при норме 12%. Необходимо подчеркнуть, что степень снижения данных показателей была прямо пропорциональна степени тяжести патологического процесса.

Уровень сывороточного железа был значительно сниженным по сравнению с нормой (4,6-9,8 мкмоль/л).

Обнаружены изменения также со стороны общего белка и белковых фракций. Характерным являлись гипопроотеинемия у 19 больных (общий белок менее 65 г/л), диспротеинемия.

При изучении других биохимических анализов, в том числе фореаза гемоглобина, нами не обнаружено никаких отклонений от нормы.

Исследование костномозгового пунктата показало гипохромию эритроцитов, гиперплазию красного ростка; причём в 50% случаев отмечено сужение белого ростка кроветворения. Число митозов красной крови составляло 1,5-5%. Данные изменения подтверждают напряжённость гемопоэза, который возникает в ответ на длительную гипоксию органов и тканей.

Оценка активности внутриклеточных ферментов показала наличие специфических особенностей, характеризующих функционирование системы энергообеспечения клетки у всех детей с ЖДА. Так, нами выявлено значительное напряжение процессов энергообеспечения в клетке, выражающееся в нарушении работы сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – фермента, который считается основным митохондриальным ферментом из-за вовлеченности его в катализ и в цикле Кребса, и на втором этапе дыхательной цепи.

У детей с ЖДА легкой степени средняя активность СДГ составила $14,84 \pm 0,22$; α -ГФДГ – $11,47 \pm 0,19$, что достоверно ниже по сравнению с показателями детей контрольной группы ($17,64 \pm 0,10$ и $13,39 \pm 0,21$ соответственно). Кроме этого, у данной группы детей выявлены низкие значения коэффициента эксцесса и асимметрии по α -ГФДГ.

У детей с ЖДА средней тяжести средняя активность СДГ была в пределах $12,39 \pm 0,24$; α -ГФДГ – $9,34 \pm 0,25$. Для этой группы был характерен более низкий уровень разнородности клеточной популяции, а также снижение коэффициента эксцесса по СДГ и α -ГФДГ и снижение коэффициента асимметрии по α -ГФДГ, что свидетельствует о снижении компенсаторных возможностей клеток.

У детей с ЖДА тяжелой степени обнаружена выраженная депрессия ферментов: средняя активность СДГ составила $10,41 \pm 0,18$; α -ГФДГ – $7,20 \pm 0,19$. Выявлено уменьшение количества пула лимфоцитов с типичной активностью, а также снижение разнородности и разнообразия клеток.

Корреляционный анализ выявил взаимосвязь

концентрации гемоглобина со средним показателем митохондриальных ферментов лимфоцитов: СДГ и α -ГФДГ ($r=0,78$, $r=0,81$ соответственно; $p<0,001$).

Заключение. Таким образом, проведенное исследование показало угнетение активности ключевых ферментов цикла Кребса (сукцинатдегидрогеназы и альфа-глицерофосфат-дегидрогеназы) у больных с ЖДА, которое свидетельствует о неустойчивом равновесии гомеостаза. Степень депрессии вышеуказанных энзимов у больных детей свидетельствуют о выраженных метаболических нарушениях на клеточном уровне, которые развиваются вследствие длительной гемической гипоксии и сидеропении в организме.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 14-15 см. в REFERENCES)

1. Алексеев Н.А. Гематология и иммунология детского возраста. – СПб.: Гиппократ, 2009.- 1039 с.
2. Балашова Е.А. Современные подходы к диагностике железодефицитной анемии у детей / Е.А. Балашова, Л.И. Мазур // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015.- №4.- С. 31-36.
3. Балыкова Л.А. Перспективы метаболической терапии в детской спортивной кардиологии / Л.А. Балыкова, С.А. Ивянский, Л.М. Макаров, И.А. Маркелова, М.И. Киселева, В.П. Балашов // Педиатрия. - 2009. – Т. 88, №5.- С.7-13.
4. Бережной В.В. Комплексные подходы в терапии дефицита железа, цинка, витаминов группы В у детей школьного возраста // В.В. Бережной, В.В. Корнева // Современная педиатрия. - 2016. - № 3 (75). - С.45-53.
5. Джанашия К.П. Атопический дерматит и полисистемная митохондриальная недостаточность / К.П. Джанашия, О.Д. Куликова, Т.Д. Измайлова, С.В. Петричук // Детская больница. - 2011. - № 4. - С. 20-25.
6. Куртасова Л.М. Иммунологические показатели, ферментный профиль лимфоцитов и функциональная активность нейтрофилов крови у детей с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна–Барр / Л.М. Куртасова, А.Е. Толстикова, А.А. Савченко // Вестник РАМН. - 2013. - № 7. - С.42-46.
7. Куртасова Л.М. Иммунологические показатели и ферментный профиль лимфоцитов крови у часто болеющих детей раннего возраста / Л.М. Куртасова, Т.В. Лубнина // Эпидемиология и инфекционные болезни. Издательство: «Медицина» (Москва), 2012. - № 5. – С.22-25.
8. Куртасова Л.М. Активность НАД (Ф)-

зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей раннего возраста с гипертрофией глоточной миндалины / Л.М. Куртасова, А.Р.Шмидт, Т.В. Лубнина // Медицинская иммунология. - 2014. - №4. -С. 381-384.

9. Новицкая В.П. Особенности ферментного статуса лимфоцитов крови новорожденных детей с гипотрофическим вариантом задержки внутриутробного развития / В.П. Новицкая, В.Л. Грицинская // Российский Вестник перинатологии и педиатрии. 2016. - № 3.- С.46-50.

10. Павлов А.Д. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. / А.Д. Павлов, Е.Ф. Морщакова, А.Г. Румянцев. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 304 с.

11. Пшеничная К.И. Дифференцированная оценка показателей обмена железа при гипохромных анемиях у детей / К.И. Пшеничная, Ю.И. Жиленкова // Педиатр. - 2016. – Т. 7, № 1. - С. 27–31.

12. Тарасова И.С. Новые направления в диагностике, лечении и профилактике железодефицитных состояний / И.С. Тарасова, В.М. Чернов // Современная педиатрия. - 2012. - №2. - С. 18–24.

13. Тарасова И.С. Железодефицитная анемия у детей и подростков / И.С. Тарасова // Вопросы современной педиатрии. - 2011. – Т. 10, №2. - С. 40-48.

REFERENCES

1. Alekseev N. A. *Gematologiya i immunologiya detskogo vozrasta* [Pediatric Hematology and Immunology]. St. Petersburg, Gippokrat Publ., 2009. 1039 p.
2. Balashova E. A. *Sovremennye podkhody k diagnostike zhelezodefitsitnoy anemii u detey* [Current approaches to the diagnosis of iron deficiency anemia in children]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii - Russian Herald of Perinatology and Pediatrics*, 2015, No. 4, pp. 31-36.
3. Balykova L. A. *Perspektivy metabolicheskoy terapii v detskoj sportivnoy kardiologii* [Perspectives on Metabolic Therapy in Pediatric Athletic Cardiology]. *Pediatrriya - Pediatrics*, 2009, Vol 88, No. 5, pp. 7-13.
4. Berezhnoy V. V. *Kompleksnye podkhody v terapii defitsita zheleza, tsinka, vitaminov gruppy V u detey shkolnogo vozrasta* [Integrated approaches in the treatment of iron, zinc, and B vitamin deficiencies in school-age children]. *Sovremennaya pediatriya - Modern pediatrics*, 2016, No. 3 (75), pp. 45-53.
5. Dzhanaishiya K. P. *Atopicheskiy dermatit i polisistemnaya mitokhondrialnaya nedostatochnost* [Atopic dermatitis and polysystemic mitochondrial deficiency]. *Detskaya bolnitsa - Children's Hospital*, 2011, No. 4, pp. 20-25.

6. Kurtasova L. M. Immunologicheskie pokazateli, fermentnyy profil limfotsitov i funktsionalnaya aktivnost neytrofilov krovi u detey s infektsionnym mononukleozom, vyzvannym virusom Epshteyna-Barr [Immunological parameters, lymphocyte enzyme profile, and neutrophil functional activity in children with Epstein-Barr virus-induced mononucleosis]. *Vestnik RAMN – Herald of Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, No. 7, pp. 42-46.

7. Kurtasova L. M. *Immunologicheskie pokazateli i fermentnyy profil limfotsitov krovi u chasto boleyushchikh detey rannego vozrasta. Epidemiologiya i infektsionnye bolezni* [Immunological parameters and enzyme profile of blood lymphocytes in frequently ill young children]. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni - Epidemiology and infectious diseases*, 2012, No. 5, pp. 22-25.

8. Kurtasova L. M. Aktivnost NAD (F)-zavisimykh dehidrogenaz v limfotsitakh perifericheskoy krovi u detey rannego vozrasta s gipertrofiyey glotochnoy minaliny [Activity of NAD (F)-dependent dehydrogenases in peripheral blood lymphocytes of young children with pharyngeal tonsil hypertrophy]. *Meditsinskaya immunologiya - Medical immunology*, 2014, No. 4, pp. 381-384.

9. Novitskaya V. P. Osobennosti fermentnogo statusa limfotsitov krovi novorozhdennykh detey s gipotroficheskimi variantami zaderzhki vnutritrobnogo razvitiya [Peculiarities of the enzyme status of blood lymphocytes of newborn infants with hypotrophic variant of intrauterine developmental delay]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii - Russian Herald of Perinatology and Pediatrics*, 2016, No. 3, pp. 46-50.

10. Pavlov A. D. *Eritropoez, eritropoetin, zhelezo* [Erythropoiesis, erythropoietin, iron]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2011. 304 p.

11. Pshenichnaya K. I. Differentsirovannaya otsenka pokazateley obmena zheleza pri gipokhromnykh anemiyakh u detey [Differential evaluation of iron metabolism in hypochromic anemia in children]. *Pediatriya - Pediatrics*, 2016, Vol. 7, No. 1, pp. 27-31.

12. Tarasova I. S. Novye napravleniya v diagnostike, lechenii i profilaktike zhelezodefitsitnykh sostoyaniy [New directions in diagnosis, treatment and prevention of iron deficiency conditions]. *Sovremennaya pediatriya - Modern pediatrics*, 2012, No. 2, pp. 18-24.

13. Tarasova I. S. Zhelezodefitsitnaya anemiya u detey i podrostkov [Iron deficiency anemia in children and adolescents]. *Voprosy sovremennoy pediatrii - Questions of modern pediatrics*, 2011, Vol. 10, No. 2, pp. 40-48.

14. Baker R. D., Greer F. R. The Committee on Nutrition. Diagnosis and Prevention of Iron Deficiency and Iron-Deficiency Anemia in Infants and Young Chil-

dren (0-3 Years of Age). *Pediatrics*, 2010, Vol. 126, pp. 1040-1050.

15. Lee J. O., Ahn S. Prevalence and Risk Factor of Iron Deficiency Anemia in Korea: The Fifth Korean Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES V-1). *Journal of Korean Medical Science*, 2014, Vol. 29, No. 2, pp. 224-229.

ХУЛОСА

С.Н. Давлатова, К.И. Исмоилов

ХУСУСИЯТҲОИ ФАЪОЛНОКИИ ФЕРМЕНТАТИВИИ ЗАНЧИРИ КРЕБС ДАР ЛИМФОСИТҲОИ КӮДАКОНИ ГИРИФТОРИ КАМХУНИИ НОРАСОГИИ ОҲАН

Мақсади таҳқиқот. Таҳқиқи хусусиятҳои фаъолнокии ферментативии даври Кребс дар лимфоситҳои хуни канории кӯдакони гирифтори камхунии норасогии оҳан (КНО).

Мавод ва усулҳои таҳқиқот. 54 кӯдакони синни 2 – 15-солаи гирифтори КНО-и дараҷаи гуногун таҳқиқ карда шуданд. Нишондодҳои параклиникӣ ва статуси ферментии лимфоситҳои хуни канории онҳо омӯхта шуданд.

Натиҷаҳои таҳқиқот ва муҳокимаи онҳо. Дар кӯдакони гирифтори камхунии норасогии оҳан тағйиротҳои ба ин беморӣ хос аз ҷониби усулҳои таҳқиқотии лабораторӣ: пастшавии сатҳи оҳани зардобӣ, камшавии миқдори гемоглобин ва эритроцитҳо, гипохромияи эритроцитҳо, коҳиши диаметр ва ҳаҷми миёнаи эритроцитҳо, микроцитоз, пойкилоцитоз, гипо- ва диспротеинемия ошкор гардиданд. Ҳангоми таҳлили миелограмма гипохромияи эритроцитҳо ва зиёдшавии миқдори митози хуни сурх (гиперплазияи ҷавонаи эритроидӣ) падидаи гардид. Омӯзиши статуси ферментии лимфоситҳои хун паҳншавии дараҷааш гуногуни ферментҳои асосии даври Кребс: суксинатдегидрогеназа (СДГ) ва алфа-глицерофосфатдегидрогеназа (α-ГФДГ)-ро вобаста ба дараҷаи вазнинии камхунӣ нишоҳ дод.

Хулоса. Натиҷаҳои таҳқиқоти гузаронидашудаи статуси ферментии лимфоситҳои хун аз депрессияи фаъолнокии дегидрогеназҳои дохилиҳуҷайравӣ шаҳодат медиҳанд, ки онҳо аз гипоксияи музмуни гемикӣ ва сидеропения дар организми кӯдакони бемор вобастагӣ доранд. Вазеҳии ҳалалёбиҳои метаболикӣ дар кӯдакони дорои КНО бараванди камхунӣ мутаносиб буд.

Калимаҳои калидӣ: камхунии норасогии оҳан, гипоксия, кӯдакон, ҳалалёбиҳои метаболикӣ.