

Stężenie kwasu mlekowego w surowicy krwi u dzieci po pierwszym epizodzie drgawek

Serum lactate concentrations in children after the first episode of convulsions

Mirosław Jasiński, Ewa Zienkiewicz, Renata Koncewicz

Katedra Pediatrii, Klinika i Katedra Endokrynologii i Neurologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Lublinie
Oddział Neurologii

STRESZCZENIE

Cel: W pracy przedstawiono i omówiono wybrane wyniki badań, których celem była próba oceny stężenia kwasu mlekowego w surowicy krwi jako wskaźnika zaburzeń pośredniej przemiany materii u dzieci po pierwszym w życiu epizodzie drgawek. **Materiał:** Badania przeprowadzono u 27 dzieci (15 chłopców i 12 dziewcząt) w wieku od 6 lat do 17 lat 6 miesięcy, po napadzie drgawek, oraz w grupie kontrolnej 22 dzieci (11 chłopców i 11 dziewcząt). Metodą enzymatyczną oznaczono stężenie kwasu mlekowego surowicy krwi. **Wyniki:** W grupie dzieci po napadzie drgawkowym stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) wyższe stężenie kwasu mlekowego aniżeli w grupie dzieci zdrowych. Zarówno w grupie badanej, jak i w grupie kontrolnej nie zaobserwowano istotnego wpływu płci i wieku na stężenie kwasu mlekowego. Stwierdzono istotną statystycznie współzależność pomiędzy stężeniem mleczanów a poziomem glikemii (korelacja dodatnia $r_p = 0,549$, statystycznie istotna, $p < 0,05$) oraz pomiędzy stężeniem mleczanów a poziomem HCO_3 (korelacja dodatnia $r_p = 0,462$, statystycznie istotna, $p < 0,05$). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mleczanów a wskaźnikiem pH. **Wnioski:** Ocena wartości diagnostycznej laktacemii po pierwszych epizodach drgawek wymaga poszerzonych badań.

Słowa kluczowe: Mleczany, przemiana pośrednia, drgawki

ABSTRACT

Aim: The paper presented and discussed selected results of research which aimed at serum lactate concentration as an index of glucose intermediate metabolism in children after the first episode of convulsions. **Material:** In 27 children after the first episode of convulsions (15 boys and 12 girls, 6-17.5 year old), and 22 healthy controls (11 boys and 11 girls), serum lactate concentration was determined (by enzymatic method). **Results:** In the group of examined children the higher (compared with controls) values for lactate concentration ($p < 0.05$) were observed. Neither in examined nor in controls, sex and age influenced serum lactate concentration. The tendency ($p < 0.05$) to positive correlation between lactate concentrations and glycaemia ($r_p = 0.549$) and HCO_3 ($r_p = 0.462$) were observed. **Conclusion:** The diagnostic significance of lactate concentration in children after the first episode of convulsions needs to be carried out.

Key words: Lactate-blood, glucose intermediate metabolism, convulsions

Przez prawie cały dwudziesty wiek mleczan był w dużej mierze uważany za końcowy, zbyteczny produkt glikolizy, spowodowanej niedotlenieniem narządów i tkanek [1]. Wskazywany był jako nadrzędna przyczyna powstawania długu tlenowego po wysiłku fizycznym, jako główny powód zmęczenia mięśni oraz jako kluczowy czynnik w uszkodzeniu tkanek, wywołanym kwasicą [2]. Zmiany zachodzące od lat siedemdziesiątych XX wieku w postrzeganiu roli mleczanów można nazwać „rewolucją mleczanową” [3]. Przeważająca część dowodów sugeruje, że mleczan jest ważnym pośrednikiem w niezliczonych procesach metabolicznych, w szczególności zaś ruchomym paliwem dla metabolizmu tlenowego, a możliwe że również czynnikiem pośredniczącym w

procesach oksydacji-redukcji zarówno w komórce, jak i w przestrzeniach poza komórkowych [4].

W warunkach prawidłowych glukoza ulega fosforylacji do glukozo-6-fosforanu. Reakcja ta katalizowana jest przez obecny we wszystkich tkankach enzym – heksokinazę, zaś dostarczycielem energii jest kompleks Mg^{++} ATP. Glukozo-6-fosforan ulega przekształceniu (w cyklu przemian tlenowych, czyli cyklu Embdena-Mayerhoffa-Parnasa) do pirogronianu, z którego w toku dekarboksylacji powstaje acetylo-CoA, włączany następnie do cyklu kwasów trójkarboksylowych (cyklu Krebsa). Końcowym efektem przemian jest wytworzenie ATP, CO_2 i H_2O [5–7].

Całkowita przemiana glukozy do CO_2 i H_2O w warunkach aerobowych doprowadza do wytworzenia 38 cząsteczek ATP [6, 7], z tego utlenienie jednej cząsteczki pirogronianu, do postaci CO_2 i H_2O , jest dostarczycielem aż 30 cząsteczek ATP.

Pewna ilość pirogronianu (w obecności dehydrogenazy mleczanowej i NADH^+H^+), ulega przemianie do kwasu mlekowego. W stanie spoczynku źródłem mleczanów jest wiele tkanek ustrojowych (np. skóra, tkanka nerwowa, mięśnie, krwinki białe i śluzówka jelit), w trakcie wysiłku oraz w sytuacji niedokrwienia i niedotlenienia znaczącym źródłem dużych ilości kwasu mlekowego stają się mięśnie szkieletowe. Ta przemiana pirogronianu do mleczanu jest energetycznie bardzo mało wydajna i dostarcza zaledwie dwóch cząsteczek ATP z jednej cząsteczki pirogronianu [7]. Jeżeli metabolizm węglowodanów nie jest zakłócony, a pacjent znajduje się w stanie spoczynku, stężenia molowe mleczanu i pirogronianu pozostają w ludzkim organizmie w stałej proporcji 10:1 [9].

Kwas mlekowy w postaci zdysocjowanej tworzy mleczały. Kwas mlekowy (jako anion lub jako kwas) swobodnie dysocjuje przez błony biologiczne. Mleczały mogą być źródłem energii dla tkanek pozawątrobowych (w spoczynku głównie nerki i wątroba), mogą też być transformowane (w wątrobie) do glukozy w procesie glukoneogenezy, zwanym cyklem Corich. W tej reakcji z dwóch cząsteczek mleczanu powstaje jedna cząsteczka glukozy. Proces ten wymaga dostarczenia dwóch jonów wodorowych. Przemiana mleczanowa ma tym samym znaczenie w utrzymaniu równowagi kwasowo-zasadowej [7, 10, 11].

Publikowane badania doświadczalne na zwierzętach [12, 13] jak i badania kliniczne dotyczące dzieci po przebytych napadach drgawkowych [14–16] sugerują związek pomiędzy wystąpieniem epizodu drgawek a zwiększonym poziomem kwasu mlekowego. Dlatego też wydało się celowe prześledzenie zachowania się stężenia kwasu mlekowego u dzieci po pierwszym napadzie drgawek.

MATERIAŁ I METODY

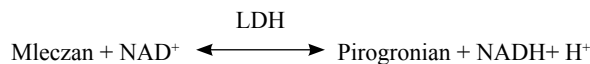
Badaniami objęto 27 dzieci po przebytych pierwszym w życiu napadzie drgawek uogólnionych (15 chłopców i 12 dziewcząt) w wieku od 6 lat do 17 lat 6 miesięcy, bez rozpoznanych chorób metabolicznych (tabela 1). Z wywiadu zebranego od rodziców lub opiekunów wynika, że okres trwania drgawek mieścił się w przedziale 2–6 minut. U żadnego z badanych dzieci nie stwierdzono innych schorzeń. Grupę kontrolną stanowiło 22 zdrowych dzieci (11 chłopców i 11 dziewcząt) w wieku od 3 lat 9 miesięcy do 17 lat 8 miesięcy.

Krew do badań pobierano w godzinach porannych (7.00–7.15) na czczo. Krew do badania pobierana była z żyły łokciowej bez użycia stazy, przy zastosowaniu cewnika *venflon*. Każdorazowo pobierano po 2 ml krwi do próbek zawierających fluorek EDTA w celu oznaczania stężenia kwasu mlekowego. Jednocześnie od dzieci po pierwszym napadzie drgawek pobierano krew celem oznaczenia wartości podstawowych parametrów biochemicznych w tym glikemii.

Wszyscy badani pacjenci znajdowali się w stanie komfortu fizycznego (wykluczono możliwość uprzedniego wysiłku fizycznego), po spoczynku nocnym. Ażeby zachować jednolite standardy przeprowadzania badań, wyeliminować ogólnie znane czynniki wpływające na hiperlaktacydemię (stres, pora dnia, wysiłek) oraz uwzględniając dotychczasowe doniesienia z lite-

ratury [2, 9], badania przeprowadzano w czasie nie krótszym niż 12 godzin po przebytych pierwszym w życiu epizodzie drgawkowym.

Kwas mlekowy we krwi oznaczano metodą enzymatyczną przy wykorzystaniu odczynników firmy Hoffman La Roche, używając analizatora *Cobas Mira*. W metodzie tej kwas mlekowy w obecności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i utlenionego dwunukleotydu nikotynamido-adeninowego (NAD^+) ulega redukcji do kwasu pirogronowego.



Ilość powstałego zredukowanego dwunukleotydu nikotynamido-adeninowego (NADH) jest wprost proporcjonalna do stężenia substratu, jakim jest kwas mlekowy. Pomiaru stężenia NADH dokonywano metodą analizy stopnia absorpcji promieniowania świetlnego o długości fali 340 nm.

Uzyskane dane liczbowe poddano analizie statystycznej. Przyjęto 5% granicę ryzyka błędu wnioskowania.

Przeanalizowano zachowanie się badanej cechy w zależności od płci i wieku oraz od wartości pH, HCO_3^- i glikemii.

Pacjenci w okresie 7–10 dni od epizodu drgawek byli poddani badaniu EEG. Wszystkie zapisy mieściły się w granicach zmienności dla wieku.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę rodziców lub prawnych opiekunów dzieci poniżej 16 roku życia, a w grupie powyżej tego wieku również od pacjentów.

WYNIKI

Stężenie kwasu mlekowego w surowicy krwi u dzieci po pierwszym napadzie drgawek mieściło się w przedziale wartości od 0,9 mmol/l do 3,50 mmol/l (średnia 2,148 mmol/l, $\text{SD}=0,675$), natomiast w grupie kontrolnej – od 0,60 mmol/l do 1,50 mmol/l (średnia 1,27 mmol/l, $\text{SD}=0,55$). Obserwowana różnica między wartością parametru w obu grupach była istotna statystycznie ($p<0,05$) – tabela 2.

Zarówno w grupie badanej, jak i w grupie kontrolnej nie stwierdzono istotnego wpływu płci i wieku na poziom kwasu mlekowego w surowicy krwi.

Prześledzono współzależność pomiędzy poziomem kwasu mlekowego w surowicy krwi oraz takimi wskaźnikami, jak: glikemia, pH i HCO_3^- . Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mleczałów a wartością pH. Stwierdzono natomiast istotną statystycznie współzależność pomiędzy stężeniem mleczałów a poziomem glikemii (korelacja dodatnia $r_p=0,549$, statystycznie istotna, $p<0,05$) oraz stężeniem mleczałów a poziomem HCO_3^- (korelacja dodatnia $r_p=0,462$, statystycznie istotna, $p<0,05$) – tabela 3.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Poziom mleczałów w surowicy krwi podlega w ciągu doby fizjologicznym wahaniom (rytm dobowy) [7, 9]. Ponadto do zaburzeń gospodarki węglowodanowej, w tym do wzrostu stężenia koncentracji kwasu mlekowego w płynach ustrojowych, przyczynić się może wiele czynników natury fizjologicznej (wysiłek fizyczny [7, 13, 17]) oraz patologicznej – wiele schorzeń, w tym przede wszystkim choroby upośledzające funkcję mięszu wątrobowego [18], zabiegi operacyjne [6, 9], stres [8, 19, 20], ostra hipoksja [21] i inne.

Tabela I. Charakterystyka grupy badanej *Characteristic of the examined group*

	Drgawki toniczne <i>Tonic convulsions</i>	Drgawki toniczno-kloniczne <i>Tonic-clonic convulsions</i>	Drgawki kloniczne <i>Clonic convulsions</i>	Razem <i>Total</i>
Dziewczęta <i>Girls</i>	2	7	3	12
Chłopcy <i>Boys</i>	4	9	2	15
Razem <i>Total</i>	6	16	5	27

Tabela II. Stężenie kwasu mlekowego w surowicy krwi u dzieci w grupie badanej i w grupie kontrolnej *Serum concentration of lactic acid in children from examined and control groups*

Parametr statystyczny <i>Statistical parameter</i>	Grupa <i>Group</i>	
	Grupa badana <i>Examined group</i>	Grupa kontrolna <i>Control group</i>
N	27	22
X	2,148	1,270
SD	0,675	0,551
Min	0,900	0,600
Max	3,500	1,500

N – liczba analizowanych przypadków, *number of analyzed patients*; X – wartość średnia, *mean value*; Min – minimalna wartość w grupie, *minimal value in the group results*; Max – maksymalna wartość w grupie, *maximum value in the group results*

Tabela III. Współczynnik korelacji liniowej Pearsona *Person's index of linear correlation*

	Grupa / Group					
	Grupa badana <i>Examined group</i>			Grupa kontrolna <i>Control group</i>		
	pH	HCO ₃	Glikemia	pH	HCO ₃	Glikemia
LA	p=0,119 (NS)	p<0,05	p<0,05	p=0,263 (NS)	p=0,990 (NS)	p=0,283 (NS)

W doborze materiału badawczego zwróciliśmy szczególną uwagę na wykluczenie innych znanych czynników mających wpływ na wynik oznaczeń poziomu laktacemii. Nasi pacjenci pozostawali w stanie komfortu fizycznego (po uprzednim śnie fizjologicznym), badania były prowadzone o stałej porze dnia, dzieci nie były narażone na ewidentne (poza faktem pobrania krwi) stany stresowe. U wszystkich badanych wykluczaliśmy również obecność ostrych schorzeń infekcyjnych i schorzeń przewlekłych. Badani nie przyjmowali żadnych leków, nie mieli zaburzeń perfuzji tkankowej, niedokrwistości, schorzeń układu sercowo-naczyniowego, etc.

W wyniku przeprowadzonych badań ustaliliśmy, że przebyty pierwszy raz w życiu epizod drgawkowy predysponuje do znacząco wyższej, aniżeli u dzieci zdrowych, laktacemii. Wyraźnie wyższe koncentracje kwasu mlekowego w grupie dzieci po przebytych drgawkach w porównaniu z grupą kontrolną (zdrowi) dotyczyły obu płci. Nasze wyniki zbliżone są do publikowanych obserwacji dotyczących dorosłych [22].

Uzyskane przez nas wyższe statystycznie poziomy kwasu mlekowego u pacjentów po przebytych drgawkach wraz z dodatnią korelacją z wartościami glikemii oraz HCO₃ mogą wskazywać

na zaburzenia metabolizmu glukozy oraz sugerować, przejściowe zaburzenia przemiany kwasowo-zasadowej z ryzykiem powstania kwasicy mleczanowej wyłącznie [23].

Dane z piśmiennictwa wskazują na istotny związek między pojawianiem się drgawek a wzrostem laktacemii zarówno w badaniach przeprowadzonych na pacjentach dorosłych, jak i w badanej grupie dzieci [14, 15]. Obserwowana przez Lamera i Imuekehme hiperlaktacemia u dzieci dotyczyła pacjentów po napadzie drgawek gorączkowych, drgawek niemowląt, a także grupy dzieci o nieznannej etiologii drgawek uogólnionych. Wzrost poziomu mleczanów obserwowano jednocześnie w pobranym płynie mózgowo-rdzeniowym w grupie badanej. Hazouard w swoich badaniach obserwował zmiany pH oraz wzrost HCO₃ statystycznie istotny, korelujący z hiperlaktacemią w grupie badanych pacjentów dorosłych, u których wystąpił pierwszy w życiu epizod drgawek [23]. Ryzyko następnej kwasicy mleczanowej opisali Lipka i wsp. [24], badając grupę pacjentów po napadzie drgawek o różnej etiologii leczonych na oddziale intensywnej terapii. Wcześniej podobne rezultaty uzyskiwano w badaniach doświadczalnych na zwierzętach, gdzie stwierdzono silną

korelację pomiędzy hiperlaktacystą u szczurów a konwersją glukozy w kwas mlekowy [12, 25].

Wartość diagnostyczna laktacysty u dzieci wymaga poszerzonych badań ukierunkowanych na wyjaśnienie: 1) czy przebyty pierwszy raz w życiu epizod drgawkowy u dzieci może zwiększyć u nich ryzyko pojawienia się kwasicy mleczanowej; 2) czy istnieje znaczące prawdopodobieństwo wystąpienia kolejnego epizodu drgawek u dzieci o znacznie podwyższonej laktacysty.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Wasserman K.: The anaerobic threshold to evaluate exercise performance. *Am Rev. Respir. Dis.*, 1984;129 (suppl.), 35.
- [2] Hermasen L.: Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise. CIBA Foundation Symposium 82 Human Muscle Fatigue: Physiological mechanisms. Porter R. & Whelan J. Pitman Medical, London 1981.
- [3] Brookes G.A.: Lactate: glycolytic product and oxidative substrate during sustained exercise in mammals—the “lactate shuttle”. *Comparative Physiology and Biochemistry: Current Topics and Trends. vol. A, Respiration-Metabolism-Circulation*, 1985: 208.
- [4] Miller B.F., Faktor J.A., Jacobs K.A. et al.: Lactate and glucose interactions during rest and exercise in man: effect of exogenous lactate infusion. *J. Physiol.*, 2002;544, 963–975.
- [5] Brooks G.A.: Lactate shuttle in nature. *Biochem. Soc. Trans.*, 2002;30, 258.
- [6] Szczepaniak S., Nowiński H., Jeleniewicz K., Maciejewska-Kozak H.: Kwas pirogronowy w wątrobie i sercu w warunkach ostrej intoksykacji chlorfenwinfossem. *Rocz. Zakł. Hig.*, 1991;42(29), 205.
- [7] Levere X., Mustafa I.: Lactate; a key metabolite in intercellular metabolic interplay. *Critical Care*, 2002;6, 284.
- [8] James J.H., Lanchette F.A., McCarter F.D. et al.: Lactate in an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet*, 1999;354, 505–508.
- [9] Czyżyk A.: Przemiana węglowodanów. [w:] Patofizjologia i klinika cukrzycy. PWN, Warszawa 1997: 135.
- [10] Felig P.: The glucose-alanine cycle. *Metabolism*, 1973;22, 179.
- [11] Raichle M.E.: The Pathophysiology of Brain Ischemia. *Ann. Neurol.*, 1983;13, 2.
- [12] Dufour F., Koning E., Nehling A.: Basal levels of metabolic activity are elevated in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS): measurement of regional activity of cytochrome oxidase and lactate dehydrogenase by histochemistry. *Exp. Neurol.*, 2003;182 (2), 346.
- [13] Darbin O., Rizzo J.J., Carre E. et al.: Metabolic changes in rat striatum following convulsive seizures. *Brain Res.*, 2005;1050(2), 124.
- [14] Lamers K.J., Gabreels F.J., Renier W.O. et al.: Fasting studies in cerebrospinal fluid and blood in children with epilepsy of unknown origin. *Epilepsy Res.*, 1995;21(1), 59.
- [15] Imuekemhe S.O., Obi J.O., Sykes R.M. et al.: Cerebrospinal fluid/serum lactic acid in Nigerian children with febrile convulsions. *Ann. Trop. Paediatr.*, 1966;16(3), 181.
- [16] Nussinovitch M., Harel D., Eidlitz-Markus T. et al.: Lactic dehydrogenase isoenzyme in cerebrospinal fluid of children with infantile spasms. *Eur. Neurol.*, 2003;49(4), 231.
- [17] Acevedo E.O., Kraemer R.R., Kamimori G.H. et al.: Stress hormones, effort sense and perceptions of stress during incremental exercise: an exploratory investigation. *J. Strength Cond. Res.*, 2007;21(1), 283.
- [18] Gembicka-Kuzak D., Markiewicz L., Kuzak W.: Metabolism responses to exercise at different levels of acute hypoxia in men. *Biol. Sport*, 1991;8, 203–211.
- [19] Bakker J. Pinto de Lima: Increased blood lactate levels: an important warning signal in surgical practice. *Critical Care*, 2004: 96.
- [20] Suistomaa M., Ruokonen E., Kari A. et al.: Time-pattern: lactate and lactate to pyruvate ratio in the first 24 hours of intensive care emergency admissions. *Shock*, 200;14(1), 8.
- [21] Makoroff K.L., Cecil K.M., Care M. et al.: Elevated lactate as an early marker of brain injury in inflicted traumatic brain injury. *Pediatr. Radiol.*, 2005;35(7), 668–676.
- [22] Cavus I., Kasoff W.S., Cassaday M.P. et al.: Extra cellular metabolites in cortex and hippocampus of epileptic patients. *Ann. Neurol.*, 2005;57(2), 226.
- [23] Hazouard E., Dequin P.F., Lanotte R. et al.: Losing consciousness: role of the venous lactate levels in the diagnosis of convulsive crises. *Presse Med.*, 1998;27(13), 604.
- [24] Lipka K., Bulow H.H.: Lactic acidosis following convulsions. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 2003;47, 616.
- [25] Fray A.E., Forsyth R.J., Boutelle M.G. et al.: The mechanisms controlling physiologically stimulated changes in rat brain glucose and lactate: a microdialysis study. *J. Physiol.*, 1996;496 (1), 49.

Adres do korespondencji:

Mirosław Jasiński, 20-0834 Lublin, ul. Macierzanki 11,
e-mail: mirekjasinski@op.pl