

© ДАВАА Я. Х., ШУБИНА М. В., ТЕРЕЩЕНКО С. Ю.

УДК 616-053.31:572.5/7:612.111

СВЯЗЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕМБРАН
ЭРИТРОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ С ПАРАМЕТРАМИ ИХ
ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

Я. Х. Даваа, М. В. Шубина, С. Ю. Терещенко

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск

директор – чл.-корр. РАМН В. Т. Манчук.

***Резюме.** Исследованы эритроцитарные мембраны, полученные по методу J. T. Dodge из пуповинной крови 71 новорожденного тувинской национальности. Мембраны эритроцитов исследованы методом флуоресцентной спектроскопии. Обнаружено снижение текучести эритроцитарных мембран у детей с массой тела < 3034 гр. Установлено повышение Са-связывающей способности эритроцитарных мембран новорожденных с индексом Кетле $I < 61$ и окружностью головы ≤ 34 см.*

***Ключевые слова:** новорожденные дети, физическое развитие, клеточная мембрана, эритроцит.*

Даваа Яна Хураган-ооловна – аспирант НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН; e-mail: Davaa_68@mail.ru.

Шубина Маргарита Валерьевна – аспирант НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН; тел 8(391)2640961.

Терещенко Сергей Юрьевич – д.м.н., проф., руководитель клинического отделения соматического и психического здоровья детей НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН; legise@mail.ru; тел 8(391)2640961.

Физическое развитие ребенка отражает закономерный процесс созревания организма, а также его морфофункциональное состояние в данном возрастном периоде. Процессы регуляции физического развития организма ребенка, начиная с внутриутробного периода жизни, осуществляются на различных структурных уровнях организации биосистемы при тесном их взаимодействии. При этом клеточные механизмы составляют метаболическую и регуляторную базу для процессов интеграции на уровне всего организма ребенка и во многом определяют темпы физического развития [10]. Это находит отражение в характере возрастных особенностей клеточных структур, что может быть прослежено на примере клеточной мембраны [4, 9].

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что состояние клеточных мембран является одним из ранних и чувствительных показателей состояния организма ребенка и его физического развития [2]. Это связано с фундаментальными свойствами биологических мембран, обеспечивающих клеточную рецепцию, транспорт веществ в клетки, клеточную регуляцию фосфолипидного и белкового обменов, ионного баланса клеток, то есть базовых факторов нормального роста и развития плода и новорожденного [12]. Выпадение каждого из компонентов регуляции на уровне клеточной мембраны из общей системы нарушает единую цепь

регуляции функций организма и приводит к развитию различных патологических состояний, отражающихся на параметрах физического развития новорожденного. Состояние структуры мембран клеток коррелирует с физиологической зрелостью организма ребенка и с уровнем заболеваемости плода и новорожденного, поэтому может служить одним из критериев его здоровья и физического развития [5].

Таким образом, существуют веские предпосылки, обосновывающие целесообразность изучения особенностей молекулярной организации плазматических мембран в зависимости от важнейших маркеров физиологической зрелости новорожденного – показателей физического развития.

Целью настоящего исследования явилось изучение связи параметров молекулярной организации мембран эритроцитов пуповинной крови с отдельными показателями физического развития новорожденных.

Материалы и методы

Исследованы биофизические характеристики мембран эритроцитов пуповинной крови 71 новорожденного тувинской национальности методами флуоресцентной спектроскопии в соответствии с рекомендациями Ю.А. Владимирова и Г.Е. Добрецова на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-4» (Япония) [1].

Использованы зонды: пирен, 1-аланинонафталин-8-сульфонат (АНС), нистатин. Мембраны эритроцитов выделены с помощью метода J. T. Dodge [6].

Для исследования мембран эритроцитов мы использовали по 300 мкл суспензии в круглых кварцевых кюветах с длиной оптического пути 5 мм. Исследованы следующие биофизические характеристики мембран. Собственная беззондовая флуоресценция NADH мембран эритроцитов. Результат выражали в единицах флуоресценции (ЕФ). Собственная беззондовая флуоресценция триптофановых остатков мембранных белков (триптофанилов). Результат выражали в единицах флуоресценции (ЕФ).

Степень погруженности мембранных протеинов в липиды по коэффициенту индуктивно-резонансного перехода в системе триптофанилы-пирен. Результат выражали в относительных единицах (OE). Микровязкость поверхностных мембранных структур (вращательной диффузии) проводили по параметрам поляризации (коэффициенту анизотропии) флуоресценции зонда АНС (OE). Текучесть глубоких областей липидного бислоя мембран определяли по отношению флуоресценции эксимеры/мономеры пирена (OE). Характеристика молекулярной организации мембран и конформация белковых глобул в области белок-липидного взаимодействия исследована по параметру интенсивности флуоресценции зонда АНС после связывания с поверхностными структурами мембраны (OE). Проницаемость эритроцитарных мембран по нистатину (OE). Кальций-связывающая способность мембран (OE).

Для оценки состояния зрелости и упитанности новорожденного в педиатрической практике широко применяют массо-ростовой индекс (Кетле I). По предложению А. Ф. Тура, в нашей стране он используется в период новорожденности и отражает состояние питания ребенка во внутриутробном периоде. Данный индекс вычисляли, как отношение массы тела (гр.) при рождении к его длине (см.).

Статистическую значимость различий при сравнении двух несвязанных выборок анализировали с помощью критерия Манна-Уитни (U). Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы и интерквартильного интервала $Me(LQ-UQ)$, где Me – медиана, LQ – 25% процентиль, UQ – 75% процентиль.

Результаты и обсуждение

Важнейшим морфометрическим показателем, отражающим зрелость организма новорожденного, является его масса. В исследованной нами когорте новорожденных медиана массы тела составила 3350 (3034-3610) гр. При этом 17 новорожденных составили группу с массой тела ниже 25

перцентиле (<3034 гр.), а остальные новорожденные, в соответствии с перцентильными коридорами, распределились следующим образом: 25-75 перцентили (3035-3610 гр.) – 36 новорожденных, выше 75 перцентиле (\geq 3610 гр.) – 18 новорожденных. У детей 1 группы (с массой тела < 3034 гр., n=17) гестационный возраст составил 39 (38-40) недель, а у детей 2 группы с массой тела \geq 3034 гр., n=54) – 40 (39-40) недель, p=0,007.

Данные, отражающие молекулярную организацию эритроцитарных мембран новорожденных тувинской национальности в зависимости от их массы тела, представлены в табл. 1.

Нами было установлено, что мембраны детей с низкой массой (<3034 гр.) характеризовались отчетливой тенденцией к более низкой текучести, как глубоких слоев липидной матрицы, так и в приобластных областях мембраны (табл. 1.) по сравнению с более крупными детьми, то есть отмечалась тенденция тотальной ригидности липидного матрикса мембраны. Изменений микровязкости эритроцитарных мембран, в зависимости от значений других параметров физического развития (рост, окружности головы и грудной клетки, индекса Кетле I), нами не установлено.

Полученные нами данные о связи снижения текучести эритроцитарных мембран с низкой массой новорожденных подтверждаются исследованиями других авторов [8, 9, 10], в данных исследованиях установлено, что при недостатке ω -3 полиненасыщенных жирных кислот в рационе беременных женщин младенческая масса тела при рождении достоверно снижалась. При этом уровень ненасыщенных жирных кислот у беременных женщин коррелировал со структурой мембраны эритроцита. Данное обстоятельство может иметь важное диагностическое значение для оценки эмбрионального развития плода и состояния новорожденного.

На наш взгляд, более высокая текучесть мембран эритроцитов у детей с большей массой тела при рождении напрямую связана с подвижностью окружающих зонд липидных молекул. Известно, что структурная

организация липидной фазы плазматической мембраны отражает степень соотношения насыщенных и ненасыщенных форм жирнокислотных цепей молекул фосфолипидов в мембранах, которые изменяют текучесть их сердцевин и полярной области мембран [3]. Ненасыщенные жирные кислоты выполняют, так называемое, разжижающее или "флюидизирующее" действие в мембранах, являясь более подвижным строительным материалом для фосфолипидов и гликолипидов. Эти молекулы, регулируя текучесть липидного бислоя мембран, контролируют через данное свойство обмен веществ между клетками и организмом в целом, а потому жизненно важны для функционирования организма. Ненасыщенные жирные кислоты влияют на структуру и активность клеток, снижают уровень холестерина, оказывают противовоспалительный эффект, являются отличными антиоксидантами. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) рядов ω -3 и ω -6 необходимы организму для развития клеток (формирования клеточной мембраны). В период беременности ребенок получает жирные кислоты из организма матери [11]. ПНЖК ряда ω -3, проникая через плацентарный барьер, обеспечивают полноценное развитие центральной нервной системы плода, его рост и развитие [9]. Патология беременности приводит к недостатку данных компонентов в материнском организме, делает его менее устойчивым к стрессам, увеличивает вероятность преждевременных родов, уменьшает эластичность клеточных мембран. Недосток и дисбаланс этих кислот во время беременности может приводить к нарушению развития ребенка и его клеточных структур [7, 11].

В нашей выборке медиана значения индекса Кетле составила 66,0 (61,0-70,8). У 17 новорожденных значения индекса не превышали 61.

При сопоставлении массо-ростового индекса с показателями структурно-функциональной организации мембран эритроцитов новорожденных детей, нами установлено, что кальций-связывающая способность эритроцитарных мембран пуповинной крови статистически значимо повышается у детей с более низким индексом Кетле (рис. 1). Характерно, что кальций-

связывающая способность повышалась также и у новорожденных с низкими показателями окружности головы ≤ 34 см. (рис. 2).

Найденные особенности структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов у детей с малой окружностью головы и с низким индексом Кетле можно расценить как компенсаторную реакцию в виде повышения абсорбции ионизированного кальция сыворотки клеткой для построения структуры костей. Организм плода в таких условиях вынужден компенсировать дефект усвоения кальция материнским организмом путем активации захвата клеткой ионизированного кальция из плазматического пула. Таким образом, у детей с некоторым отставанием параметров физического развития показатель кальций-связывающей способности мембраны оказался информативным, показывая, что у таких детей способность связывать двухвалентные катионы возрастает, и вероятно насыщение кальцием клетки увеличивается. Можно полагать, что этот показатель является иллюстрацией компенсаторно-приспособительных проявлений деятельности регуляторных систем детей, родившихся от матерей с патологией беременности.

Таким образом, параметры физического развития новорожденного отражались на основных свойствах мембран – их вязко-эластических свойствах и кальций-аккумулирующей функции. Наиболее важным результатом анализа связи параметров физического развития обследованных нами новорожденных тувинской национальности с показателями молекулярной организации эритроцитарных мембран пуповинной крови мы считаем выявленное нами однонаправленное повышение кальций-связывающей способности плазматической мембраны у детей с низкими значениями индекса Кетле I и малой окружностью головы. Подобный характер изменений, на наш взгляд, свидетельствует о низкой обеспеченности кальцием организма новорожденных с относительно невысокими показателями физического развития, что компенсаторно приводит к большей способности мембран к его мобилизации из сосудистого

русла. Выявленные нами взаимосвязи вполне могут быть использованы в качестве диагностических маркеров обеспеченности ненасыщенными жирными кислотами и кальцием в периоде новорожденности.

THE RELATIONS AMONG STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE ERYTHROCYTE'S MEMBRANE IN NEWBORNS AND PARAMETERS OF THEIR PHYSICAL DEVELOPMENT

J. H. Davaa, M. V. Shubina, S. Ju. Tereshchenko
State Scientific Research Institute for Medical Northern Problems of Siberian
Division of RAMS

Abstract. We studied membranes of erythrocytes obtained by J.T. Dodge method from umbilical blood of 71 newborns of Tuvyn nationality. Membranes were examined by fluorescent microscopy. Decrease of erythrocyte's membrane fluidity was found out in children with body weight < 3034 g. It was revealed that membrane calcium binding ability increases in newborn with Kettle I index < 61 and head circumference ≤ 34 cm.

Key words: newborns, physical development, cell membrane, erythrocyte.

Литература

1. Владимиров Ю. А., Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – 320 с.
2. Манчук В. Т., Терещенко В. П., Терещенко С. Ю. и др. Структурно-функциональные параметры клеток крови в норме и при патологии у детей в условиях Севера // Бюл. СО РАМН. – 2003. – №2 (108). – С. 12-16.
3. Benz R. W., Castro-Roman F., Tobias D. J. et al. Experimental validation of molecular dynamics simulations of lipid bilayers: a new approach // Biophys J. – 2005. – Vol. 88, №2. – P. 805-817.
4. Borsonelo E. C., Galduroz J. C. The role of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in development, aging and substance abuse disorders: review and propositions // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. – 2008. – Vol. 78, №4-5. – P. 237-245.
5. Davutoglu M., Guler E., Olgar S. et al. Oxidative stress and antioxidant status in neonatal hyperbilirubinemia // Saudi Med J. – 2008. – Vol. 29, № 12. – P. 1743-1748.
6. Dodge J. T., Mitchell C., Hanahan D. The preparation and hemical characteristics of hemoglobin - free ghosts of human erythrocyts // Arch. Biochem. and Biophys. – 1980. – Vol. 100, №1. – P. 119-130.
7. Kilari A. S., Mehendale S. S., Dangat K. D. et al. Long chain polyunsaturated fatty acids in mothers and term babies // J. Perinat Med. – 2009. – Vol. 37, №5. – P. 513-518.
8. Muthayya S., Dwarkanath P., Thomas T. et al. The effect of fish and omega-3 LCPUFA intake on low birth weight in Indian pregnant women // Eur J Clin Nutr. – 2009. – Vol. 63, №3. – P. 340-346.
9. Oken E., Kleinman K. P., Olsen S. F. et al. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation:

results from a US pregnancy cohort // *Am J Epidemiol.* – 2004. – Vol. 160, №8. – P. 774-783.

10. Rump P., Mensink R. P., Kester A. D. et al. Essential fatty acid composition of plasma phospholipids and birth weight: a study in term neonates // *Am J Clin Nutr.* – 2001. – Vol. 73, №4. – P. 797-806.

11. Van Der Schouw Y. T., Al M. D., Hornstra G. et al. Fatty acid composition of serum lipids of mothers and their babies after normal and hypertensive pregnancies // *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* – 1991. – Vol. 44, №4. – P. 247-252.

12. Wiggins P., Phillips R. Membrane-protein interactions in mechanosensitive channels // *Biophys J.* – 2005. – Vol. 88, №2. – P. 880-902.