

УДК 616.248-053.2-074

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ МЕТАБОЛИЗМА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛЕЙКОЦИТОВ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ**Т.Г. Глазова, А.И. Рывкин, О.В. Кузнецова, Л.Б. Воронина,**

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия»

Глазова Татьяна Геннадьевна – e-mail: an230599@rambler.ru

У детей, страдающих бронхиальной астмой, в различные периоды заболевания изучено состояние метаболических свойств мембран лейкоцитов. В периоде обострения выявлено повышение жесткости мембран клеток, снижение активности лейкоцитарной пероксидазы, увеличение концентрации МДА, сопряженные с выраженными obstructивными нарушениями и высоким уровнем маркера активности аллергического воспаления – оксидом азота, что свидетельствует о патогенетической значимости выявленных отклонений в персистировании хронического иммунного воспаления.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, лейкоциты, мембраны, перекисное окисление липидов.

Leukocyte membrane metabolic properties studied in bronchial asthma children during different period of disease. In period of exacerbation increase in cell membrane rigidity, reduction in activity of leukocyte peroxidase, increase of MDA concentration associated with severe obstructive impairment and high levels of allergic inflammation marker – nitric oxide, are indications of the pathogenetic significance of deviations found in the persistence of chronic immune inflammation.

Key words: children, bronchial asthma, leukocyte, membrane lipid peroxidation.

Введение

Бронхиальная астма (БА) в настоящее время является одной из наиболее актуальных и широко обсуждаемых проблем клинической медицины.

Исследования последних десятилетий свидетельствуют о несомненной роли в патогенезе atopической бронхиальной астмы у детей изменений в структуре и функции плазматических мембран лейкоцитов [1, 2, 3]. Активность исследований в указанном направлении определяется важнейшей ролью цитоплазматических мембран клеток в регуляции активности мембранассоциированных рецепторов, транспорта биологически активных веществ, синтезе липидных медиаторов воспаления.

Однако, при наличии многочисленных работ, касающихся изучения различных сторон этой проблемы, на наш взгляд,

отсутствует комплексное и многоуровневое изучение структурно-метаболических параметров лейкоцитарных клеток при бронхиальной астме у детей.

Цель исследования – установить особенности структурно-метаболической организации мембран лейкоцитов и системы перекисного окисления липидов, их сопряженность с респираторной активностью легких и маркером аллергического воспаления при бронхиальной астме у детей с тем, чтобы верифицировать их роль в формировании хронического иммунного воспаления.

Материал и методы

В группу исследования были включены 116 детей с atopической бронхиальной астмой в возрасте 8–14 лет в различные периоды заболевания (обострение и ремиссия). В группе

обследованных детей преобладали мальчики – 64%, девочек было 36%. Большинство имели среднетяжелую БА 75,2%, легкая астма диагностирована у 10%, тяжелая у 14,8%. В период обострения обследовано 59% больных, в клиническую ремиссию – 41%. 48,8% детей имели «стаж» заболевания более 5 лет, почти четверть пациентов (25,60%) болеют БА в течение 3–4 лет, у стольких же больных (25,60%) длительность заболевания составила 1–2 года. В качестве причинных факторов сенсibilизации наиболее часто выступали бытовые (у 40%) и эпидермальные аллергены (у 46%).

Контрольную группу составили 15 здоровых детей того же возрастного диапазона.

Клеточный метаболизм лейкоцитов изучен с помощью цитохимических методов с последующей компьютерной морфометрией цитологических параметров.

Липидный состав мембран лейкоцитарных клеток (нейтрофилы, мононуклеары, лимфоциты) определяли методом тонкослойной хроматографии общих липидов на пластинах «Сорбтон» [4]. Денситограммы обсчитывали по инструкции фирмы Хитахи. Рассчитывали коэффициент отношения Хс/Фл мембран, дающий представление о микровязкости, проницаемости и функциональной активности биомембран.

Интенсивность перекисного окисления липидов в лейкоцитах определялась по содержанию в них МДА [5].

Активность пероксидазы в лейкоцитах определяли бензидиновым методом по Sato (1928) в модификации Quagliano (1968).

Уровень нитрит-ионов в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) и лейкоцитах крови определялся методом [6].

Оценка функции внешнего дыхания проводилась методом компьютерной спирометрии по кривой «поток – объем форсированного выдоха» на приборе «SPIROSIFT-3000».

Статистическая обработка данных проводилась методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Для выяснения степени взаимосвязи между изучаемыми показателями определялись коэффициенты парной корреляции.

Результаты и их обсуждение

В острую фазу заболевания регистрировалось увеличение коэффициента Хс/Фл мембран нейтрофилов, мононуклеаров, лимфоцитов ($2,38 \pm 0,14$ у. е.; $2,00 \pm 0,166$ у. е.; $2,01 \pm 0,13$ у. е., соответственно), связанное с превалированием фракций холестерина в структурной организации плазматических мембран лейкоцитов. В результате нарушения взаимоотношения мембранных липидов формируется снижение мембранной пластичности, которое, по-видимому, имеет патогенетическое значение, определяя модификацию функциональной активности мембранных структур лейкоцитов, в частности рецепторной их составляющей, что закономерно приводит к изменению внутриклеточного метаболизма и межклеточных лейкоцитарных взаимодействий. Кроме этого, дисбаланс соотношения холестерин/фосфолипиды в мембранах лейкоцитов может трансформировать обмен мембранных фосфолипидов в сторону увеличения образования липидных медиаторов воспаления, поддерживающих воспалительный процесс в респираторном тракте [7]. Изменение мембранной микровязкости изучаемых клеток нарушает, по всей видимости, функционирование их ферментных систем, изменяет активность поверхностных рецеп-

торов и реализует один из механизмов бронхиальной обструкции [8].

Период обострения характеризовался активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствовало увеличение концентрации МДА в нейтрофилах ($5,214 \pm 0,163$ нМ/мл).

Накопление промежуточных продуктов ПОЛ было сопряжено со значительным снижением активности пероксидазы ($0,187 \pm 0,008$ усл. ед.) в сравнении с контролем ($0,369 \pm 0,022$ усл. ед.). Выраженная депрессия активности пероксидазы способствует накоплению в клетке перекиси водорода, которая, являясь промежуточным продуктом восстановления O_2 , инициирует образование крайне высокореакционноспособных форм кислорода – гидроксильного радикала и синглетного кислорода, деформирующих липопротеиновый мембранный комплекс. Таким образом, активация ПОЛ ведет к глубоким нарушениям мембранной архитектоники, к изменению физико-химических свойств липидного матрикса: снижению текучести и повышению его ригидности. В результате нарушения взаимоотношения фосфолипидов и холестерина в липидном слое мембраны происходит образование перекисных кластеров – гидрофильных каналов, резко нарушающих проницаемость мембран и дегрануляцию лейкоцитарных клеток [3].

Исследование содержания нитрит-анионов при обострении заболевания выявило увеличение их концентрации в КВВ ($0,067 \pm 0,003$ ммоль/л) и лейкоцитах: нейтрофилах – $0,035 \pm 0,001$ ммоль/л, мононуклеарах – $0,028 \pm 0,002$ ммоль/л, в сравнении с контролем ($0,050 \pm 0,004$ ммоль/л, $0,016 \pm 0,001$ ммоль/л, $0,014 \pm 0,001$ ммоль/л, соответственно).

Необходимо отметить, что выраженность и направленность изучаемых показателей находилась в прямой зависимости от тяжести БА.

Так, наибольшая степень дестабилизации цитомембранных процессов, в первую очередь, перекисного окисления липидов, зарегистрирована при тяжелом варианте заболевания.

На фоне двукратного снижения активности пероксидазы ($0,156 \pm 0,012$ усл. ед.) отмечалось значительное возрастание уровня МДА ($5,56 \pm 0,011$ нМ/мл) в сравнении с легкой ($5,16 \pm 0,015$ нМ/мл) и среднетяжелой астмой ($5,21 \pm 0,015$ нМ/мл).

Жесткость мембран всех лейкоцитарных клеток при тяжелой астме также достигала максимальных значений (Хс/ФЛ нейтр. – $2,922 \pm 0,704$ у. е., Хс/ФЛ монокл. – $2,93 \pm 0,342$ у. е., Хс/ФЛ лимф. – $2,443 \pm 0,679$ у. е.).

Одновременно при тяжелой астме отмечалась наибольшая концентрация продуктов оксида азота, как внутриклеточно, так и эндобронхиально (NO^2 -КВВ – $0,079 \pm 0,006$ ммоль/л; NO^2 -нейтр. – $0,042 \pm 0,004$ ммоль/л; NO^2 -мононукл. – $0,044 \pm 0,759$ у. е.). По-видимому, подобные изменения структурно-функциональной организации клеток, позволяют поддерживать их жизнеспособность в условиях персистирующей аллергенной агрессии и сохранять необходимый диапазон функциональной активности клеток.

Подобная направленность регистрировалась и в зависимости от давности заболевания. Наиболее выраженные изменения структурно-метаболических свойств лейкоцитов отмечались у детей со «стажем» заболевания 5 и более лет

(пероксидаза $0,175 \pm 0,011$ усл. ед.; МДА – $5,448 \pm 0,215$ Нм/мл; ХС/ФЛ-нейтр. – $2,842 \pm 0,532$ у. е., ХС/ФЛ монокл. – $2,79 \pm 0,282$ у. е., ХС/ФЛ лимф. – $2,651 \pm 0,439$ у. е.).

В периоде клинической ремиссии хронический воспалительный процесс проявлялся изменениями показателей, характеризующих метаболические свойства мембран лейкоцитов, уровень оксида азота и респираторную активность легких.

На фоне уменьшения выраженности обструктивных нарушений (ОФВ1 – $87,3 \pm 1,30\%$, ПСВ – $86,9 \pm 1,2\%$) отмечена тенденция к некоторому повышению активности пероксидазы ($0,206 \pm 0,07$ усл. ед.) в сравнении с периодом обострения ($0,187 \pm 0,008$ усл. ед.), которая, однако, не достигала контрольных значений ($0,369 \pm 0,022$ усл. ед.). Концентрация МДА в нейтрофилах оставалась повышенной ($5,212 \pm 0,156$ Нм/мл).

Сохраняющееся повышение уровня МДА в фазу ремиссии указывает на замедленную нормализацию внутриклеточных биохимических процессов по сравнению с улучшением клинической симптоматики и является структурной базой повышенного потенциального риска развития воспаления даже при минимальном воздействии патологических агентов.

Нормализации жесткости мембран в ремиссию заболевания также не происходило (Хс/Фл нейтрофилы – $1,59 \pm 0,12$ у. е., Хс/Фл мононуклеары – $1,44 \pm 0,11$ у. е., Хс/Фл лимфоциты $1,38 \pm 0,11$ у. е.).

В периоде, свободном от приступов, динамика изменений метаболических параметров мембран лейкоцитов зависела от степени тяжести заболевания.

Тяжелая астма, аналогично острому периоду, сопровождалась наиболее выраженными изменениями изучаемых лейкоцитарных параметров. Наряду со сниженной активностью пероксидазы ($0,201 \pm 0,012$ усл. ед.) и повышенной кон-

центрацией МДА в нейтрофилах ($5,224 \pm 0,115$ Нм/мл) уровень NO2-сохранялся высоким во всех средах (эндобронхиально – $0,068 \pm 0,005$ ммоль/л, в лейкоцитах – $0,025 \pm 0,001$ ммоль/л).

Заключение

Таким образом, развитие БА у детей сопровождается комплексом разнонаправленных изменений метаболических свойств мембран лейкоцитов, важнейшими из которых являлись: повышение жесткости мембран, снижение активности пероксидазы на фоне увеличения концентрации МДА, сопряженные с выраженными обструктивными нарушениями и маркером активности аллергического процесса – оксидом азота, что свидетельствует о патогенетической значимости выявленных отклонений в персистировании хронического иммунного воспаления.



ЛИТЕРАТУРА

1. Смоленов И.В. Подходы к диагностике заболеваний, сопровождающихся свистящими хрипами. Consilium medicum. 2001. Приложение. С. 21-24.
2. Федосеев Г.Б. Механизмы обструкции бронхов. С.-Пб.: Медицинское информ. агентство, 1995. С. 336.
3. Болевич С.Б. Бронхиальная астма и свободнорадикальные процессы (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). М.: Медицина, 2006. С. 256.
4. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. Количественное определение липидных фракций плазмы крови. Лабораторное дело. 1982. № 4. С. 26-29.
5. Yagi R., Omhawa H., Chishi N.. Analyt. Biochem. 1979. № 95. P. 351-358.
6. Скуп Д., Уэст Д. Основы аналитической химии: пер. с англ. М.: Мир, 1979. С. 223.
7. Терещенко С.Ю. Особенности структуры плазматических мембран при atopических заболеваниях у детей, роль в патогенезе. Бюллетень СО РАМН 2003. № 2. С. 36-40.
8. Вельтищев Ю.Е., Капустян А.М. Проблемы патологии детского возраста в аспекте нарушения структуры и функции биологических мембран. М.: Медицина, 1982. С. 69.