

О.И. Зайцева, В.П. Терещенко, Е.И. Прахин, Л.С. Эверт, М.В. Макарова, Е.И. Нягашкина,
Е.А. Демко, О.В. Аверьянова

РОЛЬ СУБКЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ У ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (Красноярск)

У здоровых детей с различным типом чувствительности эритроцитарных мембран к биорегуляторам вегетативной нервной системы исследовали содержание липидов в мембранах эритроцитов методом тонкослойной хроматографии. Показано, что наиболее адаптивными являлись структурные варианты мембран у детей со «сбалансированным типом холин-адрено-глюкокортикоидных реакций» и «сбалансированным холинергическим» типом чувствительности клеточных мембран, вследствие стабильной липидной структуры мембран эритроцитов с оптимальной способностью к окислению. Для школьников с «адреноглюкокортикоидным» типом чувствительности клеточных мембран свойственна более лабильная структура эритроцитарных мембран с пониженным содержанием общих фосфолипидов и высоким уровнем свободного холестерина. Для детей с типом «гипосинергизм холин-адрено-глюкокортикоидных реакций» клеточных мембран характерен дисадаптивный вариант липидной структуры с высоким уровнем окислительных процессов, с повышенным расходом сфингомиелина и накоплением свободных жирных кислот.

Ключевые слова: дети, метаболическая адаптация, эритроцит, липиды

ROLE OF THE CELLULAR FACTORS IN THE FORMATION OF THE METABOLIC ADAPTATION IN HEALTHY CHILDREN

O.I. Zaitseva, V.P. Tereshchenko, E.I. Prakhin, L.S. Evert, M.V. Makarova, E.I. Nyagashkina,
E.A. Demko, O.V. Aver'yanova

State Medical Research Institute for Northern Problems of Russian Academy of Medical Sciences,
Krasnoyarsk

The content of the lipids in the membranes of the erythrocytes was researched in the healthy children with different types of sensitivity of the erythrocyte membranes to the bioregulators of the vegetative nerve system by the method of the thin-layer chromatography.

It was shown that the structural variants of the membranes of the children with the «balanced type of the choline-adreno-glucocorticoid reactions» and «balanced cholinergic» type of the sensitivity of the cellular membranes, in consequence of the steady lipid structure of the membranes of the erythrocytes with the optimal ability to the oxidation. More labile structure of the erythrocyte membranes with the low content of the general phospholipids and the high level of the free cholesterol is typical for the children with «adrenogluco-corticoid» type of the sensitivity of the cellular membranes. The disadaptive variant of the lipid structure with the high level of the oxidative processes, with the high expense of sphingomyelin and the accumulation of the free fatty acids is typical for children with the type of the «hyposynergism-choline-adreno-glucocorticoid reactions» of the cellular membranes.

Key words: children, metabolic adaptation, erythrocyte, lipids

Общеизвестно универсальное участие вегетативной нервной системы (ВНС) в обеспечении процессов адаптации [1, 3]. Формирование адаптационно-приспособительных реакций сопровождается перестройкой регуляции как центральных звеньев ВНС, так и эффекторных звеньев на клеточно-молекулярном уровне. При этом клеточные механизмы приспособительных реакций, включая мембранный аппарат клетки, составляют метаболическую и регуляторную базу для процессов интеграции на уровне всего организма [11, 12]. Зачастую на клеточном уровне формируются первые доклинические признаки патологии вегетативной регуляции [2].

Рост ребенка характеризуется изменением функционального состояния ВНС, совершенствуются механизмы вегетативной регуляции [3, 11]. Мы полагаем, что неоднородность функционирования ВНС у детей обуславливает формирование

различных адаптивных состояний на уровне клеточных структур, определяющих характер метаболической адаптации и отражающих уровень здоровья в целом.

В связи с этим целью настоящего исследования явился анализ структурно-функционального состояния эритроцитарных мембран у здоровых детей в зависимости от типа чувствительности клеточных мембран к биорегуляторам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 84 школьника г. Красноярска с различным исходным вегетативным тонусом (ИВТ) в возрасте от 7 до 15 лет (38 мальчиков и 46 девочек), из них 53 ребенка с ИВТ-эйтонией, 20 — с ИВТ-ваготонией и 11 — с ИВТ-симпатикотонией. Всем учащимся проведено общеклиническое и неврологическое обследование с изучением функционального состояния ВНС методом карди-

оинтервалографии (КИГ) с определением исходного вегетативного тонуса [7]. Показатели физического и полового развития их соответствовали стандартным величинам. Дети не имели хронических заболеваний и на момент осмотра были практически здоровы. Были сформированы возрастные группы: первая — дети 7–11 лет, вторая — 12–15 лет.

Чувствительность мембран эритроцитов к биорегуляторам ВНС: ацетилхолину, адреналину и дексаметазону определяли методом микрофлуориметрии на спектрофлуориметре MPF-4 («Hitachi») с использованием флуоресцентного зонда хлортетрациклина [4, 5].

Липидный состав эритроцитарных мембран изучали методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфоль» с последующей денситометрией на «Хромоскане». Выделение мембран эритроцитов проводили по методу Доджа [13]. Экстракцию липидов проводили по методу, предложенному Н.В. Ростовцевым и Г.Е. Резником с некоторыми модификациями [10]. Для экстракции нейтральных липидов готовили смесь растворителей — гексан: диэтиловый эфир: ледяная уксусная кислота в соотношении 90 : 60 : 0,6. Для получения фракций фосфолипидов использовали элюэнтную смесь — хлороформ, метанол, дистиллированная вода в соотношении 65 : 25 : 4. Вычисляли фракционный состав нейтральных липидов: общие фосфолипиды (ОФЛ), свободный холестерол (СХС), свободные жирные кислоты (СЖК), триглицериды (ТГ), и общих фосфолипидов: лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилсерин + фосфатидилинозитол (ФС + ФИ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА). Вычислялись интегральные коэффициенты: ОФЛ/СХС, ФЭА/ФХ, и величина окисляемости липидов (ВОЛ), определяемая как отношение легкоокисляемых фосфолипидных фракций к трудноокисляемым (ФЭА + ФС + ФИ / ФХ + СМ).

Анализ данных проводили с использованием статистического пакета прикладных программ STATISTICA, ver. 5.5 (Stat Soft Inc. США) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показателей флуоресценции зонда ХТЦ с биорегуляторами ВНС (ацетилхолином, адреналином, дексаметазоном), определяемых в мембранах эритроцитов, позволил сформировать группы детей по вариантам чувствительности к биорегуляторам [2]:

- тип биомембран с адекватно высокой чувствительностью эритроцитарных мембран ко всем биорегуляторам ($39,3 \pm 5,33$ % случаев), характеризующийся достаточно высокой прочностью физиологических механизмов регуляции и условно названный «сбалансированный тип холин-адрено-глюкокортикоидных реакций» (СХАГ-тип);
- тип биомембран с преобладающей реакцией эритроцитарных мембран на ацетилхолин

($32,1 \pm 5,10$ % случаев), когда клеточные структуры находятся в состоянии стабильности, и условно названный «сбалансированный холинергический» (СХ-тип);

- тип биомембран с преобладающей реакцией эритроцитарных мембран на адреналин и дексаметазон ($20,23 \pm 4,38$ % случаев), когда преобладает реактивность симпатического отдела вегетативной нервной системы и относительная слабость парасимпатического отдела, сопровождающаяся лабильностью регуляторных механизмов, и условно названный «адреноглюкокортикоидный» (АГ-тип);
- тип биомембран со сниженной чувствительностью эритроцитарных мембран на все биорегуляторы ($8,3 \pm 3,02$ % случаев), характеризующийся слабостью физиологических механизмов регуляции и условно названный «гипосинергизм холин-адрено-глюкокортикоидных реакций» (ГХАГ-тип).

У детей в зависимости от типа чувствительности клеточных мембран липидный состав эритроцитарных мембран был вариabельным. Результаты исследований представлены в таблице 1.

В группе детей со СХАГ-типом чувствительности клеточных мембран распределение структурных липидов в мембранах эритроцитов характеризовалось наивысшим содержанием СХС, второй по величине была фракция ОФЛ, наименьшие значения обнаруживала фракция СЖК от суммы всех фракций нейтральных липидов. В спектре фосфолипидов наибольшее процентное содержание от суммы всех фракций фосфолипидов приходилось на долю легкоокисляемой фракции ФЭА, второй по величине фракцией была мембраностабилизирующая фракция ФХ, наименьшим было процентное содержание мембранодестабилизирующей фракции ЛФХ (около 3 %) от суммы всех фракций фосфолипидов.

Ввиду того, что группа детей со СХАГ-типом чувствительности биомембран была самой многочисленной и одинаково представлена в анализируемых возрастных подгруппах, количественный состав липидов в мембранах эритроцитов у них может считаться наиболее благоприятным в метаболическом плане и рассматриваться в качестве контрольного. При этом СХАГ-тип мембранной чувствительности на уровне организма в $78,8 \pm 7,12$ % случаев составляли дети со сбалансированным состоянием регуляторных систем ВНС (с ИВТ-эйтонией ($p < 0,001$), что служило доказательством совпадения направленности метаболических процессов, как на уровне организма, так и на уровне клетки, и соответствовало синдрому «удовлетворительной адаптации».

У детей с СХ-типом чувствительности клеточных мембран регистрировалось аналогичное в сравнении с контролем распределение процентного содержания фракций нейтральных липидов, что обусловлено схожестью метаболических процессов в рассматриваемых группах. В спектре фосфолипидов фиксировалось статистически

Таблица 1

Содержание фракций нейтральных липидов и фосфолипидов в мембранах эритроцитов у здоровых детей в зависимости от типа чувствительности клеточных мембран (в процентах от суммы фракций), $M \pm m$

Фракции липидов	СХАГ-тип n = 33 [1]	СХ-тип n = 27 [2]	АГ-тип n = 17 [3]	ГХАГ-тип n = 7 [4]	Статистическая значимость различий (p)
Нейтральные липиды					
ОФЛ	29,25 ± 0,78	27,31 ± 0,89	24,91 ± 1,10	23,33 ± 2,17	$p_{1-3} < 0,01$ $p_{1-4} < 0,01$
СХС	46,55 ± 0,84	47,07 ± 1,03	49,47 ± 1,26	49,59 ± 1,62	$p_{1-3} = 0,05$
СЖК	11,74 ± 0,49	12,02 ± 0,82	13,28 ± 0,07	15,87 ± 1,87	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,01$
ТГ	12,30 ± 0,74	13,64 ± 0,98	11,69 ± 0,97	11,85 ± 1,93	
ОФЛ/СХС отн. ед.	0,64 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,47 ± 0,04	$p_{1-3} < 0,01$ $p_{1-4} < 0,001$
СЖК/ТГ, отн. ед.	1,07 ± 0,08	1,04 ± 0,12	1,27 ± 0,13	1,59 ± 0,33	$p_{1-4} < 0,01$
Фосфолипиды					
ЛФХ	2,92 ± 0,17	2,83 ± 0,19	3,14 ± 0,24	3,57 ± 0,73	
СМ	17,68 ± 0,64	16,93 ± 0,54	18,04 ± 1,10	13,50 ± 1,20	$p_{1-4} < 0,01$
ФХ	31,95 ± 0,95	27,55 ± 0,86	31,80 ± 1,28	30,24 ± 2,44	$p_{1-2} < 0,01$
ФИ+ФС	9,08 ± 0,82	8,81 ± 0,84	8,68 ± 1,06	9,67 ± 2,58	
ФЭА	38,06 ± 1,35	43,78 ± 0,98	38,32 ± 2,13	42,97 ± 2,64	$p_{1-2} < 0,01$
ВОЛ, отн. ед.	0,96 ± 0,03	1,22 ± 0,06	0,97 ± 0,06	1,18 ± 0,14	$p_{1-2, 4} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$
ФЭА/ФХ, отн. ед.	1,25 ± 0,06	1,66 ± 0,10	1,25 ± 0,09	1,52 ± 0,19	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-4} < 0,001$

значимое снижение мембраностабилизирующей фракции ФХ ($p < 0,01$) и процентное увеличение легкоокисляемой фракции ФЭА ($p < 0,01$), что сказывалось на статистически значимом повышении коэффициентов ВОЛ ($p < 0,001$) и ФЭА/ФХ ($p < 0,001$). Полученные данные свидетельствовали, вероятно, об усилении окислительной способности липидов. Несмотря на то, что эритроцитарные мембраны у детей с СХ-типом чувствительности характеризовались обеднением стабилизирующей фракции ФХ по сравнению с контролем, и были более подвержены окислительным процессам (высокие коэффициенты ВОЛ и ФЭА/ФХ), в целом соотношение фосфолипидов и их лизоформ устойчиво сохранялось на уровне, близком к описанному выше оптимальному варианту.

Учитывая, что в группе детей с СХ-типом чувствительности клеточных мембран отмечалось совпадение направленности метаболических процессов на уровне мембранного звена клетки и на уровне организма [2], причем в половине случаев данный тип чувствительности регистрировался у школьников с ИВТ-эйтионией, то данная метаболическая ситуация соответствовала синдрому «удовлетворительной адаптации».

В липидном спектре эритроцитарных мембран у детей с АГ-типом чувствительности в сравнении с аналогичными показателями контрольного варианта определялся дисбаланс в процентном

содержании структурных фракций, характеризующийся статистически значимым снижением наиболее важной фракции нейтральных липидов – ОФЛ ($p < 0,01$) и увеличением СХС ($p = 0,05$), что сказывалось на понижении коэффициента ОФЛ/СХС ($p < 0,01$). В спектре мембранных фосфолипидов различий найдено не было, что обусловлено, вероятнее всего, высокой функциональной значимостью фосфолипидов (ФХ, ФЭА, ФИ + ФС) в обеспечении работы мембранных рецепторов [8]. Снижение же содержания ОФЛ обусловлено, по всей видимости, повышенным расходом основных структурных липидов, что соответствовало в целом адренергическому типу регуляции [6]. При этом на уровне организма данный тип составляли преимущественно школьники с симпатической активностью ВНС [2], что свидетельствовало об «эрготропном» характере метаболических процессов, как на уровне организма, так и на уровне клетки. Эти данные соответствовали синдрому «напряженной адаптации» у детей данной группы.

У детей с ГХАГ-типом мембранной чувствительности липидный спектр эритроцитарных мембран характеризовался в сравнении с контролем в спектре нейтральных липидов статистически значимым увеличением детергентной фракции СЖК ($p < 0,01$). В спектре фосфолипидов фиксировалось уменьшение наиболее трудноокисляемой фракции СМ ($p < 0,01$), что сказывалось на

статистически значимом повышении коэффициента ВОЛ ($p < 0,001$) и свидетельствовало об интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Учитывая, что ГХАГ-тип чувствительности эритроцитарных мембран являлся дизадаптивным вариантом, вследствие отсутствия соответствия между различными уровнями регуляции (клеточным и целого организма) [2]. В данном случае правомочно говорить о разнонаправленном характере метаболических процессов на различных уровнях организации биосистемы (организменном и клеточном). Эти данные расценивались нами как доклинические признаки синдрома вегетативной дисфункции и свидетельствовали о неудовлетворительной адаптации у пациентов этой группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для СХАГ- и СХ-типов чувствительности клеточных мембран характерна стабильная липидная структура мембран эритроцитов с оптимальной способностью к окислению, наряду с низким уровнем лизоформ фосфолипидов, что в сочетании со сбалансированным состоянием регуляторных систем ВНС на уровне целого организма (по данным КИГ) свидетельствует о совпадении направленности метаболических процессов на различных уровнях организации организма в целом. Эти данные отражали формирование удовлетворительной адаптации у детей со СХАГ- и с СХ-типами чувствительности клеточных мембран.

Для АГ-типа чувствительности клеточных мембран свойственна более лабильная структура эритроцитарных мембран с пониженным содержанием общих фосфолипидов и высоким уровнем СХС. Эти данные в сочетании с преобладающей активностью симпатического отдела ВНС на уровне целого организма указывали на адренергический характер направленности метаболических процессов в организме в целом и свидетельствовали о напряженной адаптации у детей с АГ-типом чувствительности клеточных мембран.

Для детей с ГХАГ-типом клеточных мембран присуща липидная структура эритроцитарных мембран с высоким уровнем процессов ПОЛ, с повышенным расходом трудноокисляемого фосфолипида СМ и накоплением мембранодестабилизирующей фракции СЖК. Такая метаболическая ситуация на уровне клеточных мембран в сочетании со слабостью регуляторных систем ВНС на уровне целого организма указывала на наличие доклинических признаков синдрома вегетативной дисфункции и отражала формирование неудовлетворительной адаптации у детей этой группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баевский Р.М. Оценка адаптационных возможностей и риск развития заболеваний / Р.М. Баевский, А.П. Берсенева. — М., 1997. — 235 с.
2. Варианты реактивности клеточных мембран и их роль в формировании метаболической адаптации у здоровых детей / О.И. Зайцева, В.П. Терещенко, В.Т. Манчук, Е.И. Прахин // Фундаментальные исследования. — М., 2004. — № 6. — С. 18–21.
3. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение / Под ред. А.М. Вейна. — М.: МИА, 2000. — 746 с.
4. Владимиров Ю.А. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю.А. Владимиров, Г.Е. Добрецов. — М.: Медицина, 1980. — 320 с.
5. Зайцева О.И. Способ определения типов клеточной реактивности у детей / О.И. Зайцева, В.П. Терещенко, Е.И. Прахин // Официальный Бюлл. Рос. патентного ведомства (Роспатент) «Изобретение и полезные модели». — 2004. — № 18. — С. 26.
6. Липидный обмен у детей / В.И. Крылов, Ю.Е. Вельтищев, А.Д. Петрушина, В.М. Чимаров. — Красноярск: КГУ, 1985. — 128 с.
7. Методы изучения вегетативной нервной системы у детей и подростков: Методические рекомендации МЗ СССР / Под ред. А.М. Вейна, Н.А. Белоконов. — М., 1987. — 25 с.
8. Новицкий В.В. Физиология и патофизиология эритроцита / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая. — Томск: Изд-во Томского университета, 2004. — 202 с.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. — М.: Медиа Сфера, 2002. — 305 с.
10. Ростовцев В.Н. Количественное определение липидных фракций плазмы крови / В.Н. Ростовцев, Г.Е. Резник // Лаб. дело. — 1982. — № 4. — С. 218–221.
11. Терещенко В.П. Этапы созревания биологических мембран у детей в основные периоды онтогенеза // Бюллетень СО РАМН. — Новосибирск, 1998. — № 4. — С. 5–9.
12. Системный функциональный подход в оценке компенсаторно-приспособительных возможностей организма ребенка / О.В. Максим, О.И. Зайцева, В.П. Терещенко, Т.А. Колодяжная // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты: Материалы Всерос. конф. — Новосибирск, 2004. — С. 254–255.
13. Dodge I.N. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin — free shosts of human erythrocyts / I.N. Dodge, C. Mitchell, D. Hanahan / Arch. biochem. and biophys. — 1963. — Vol. 100, N 1. — P. 119–130.