

УДК: 616.155.194.8

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ И МОЛОДЫХ ЖЕНЩИН ПРИ ЛАТЕНТНОМ ДЕФИЦИТЕ ЖЕЛЕЗА

С.Ю. Терещенко, Э.В. Каспаров, О.А. Пахмутова

*ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск
(660022, Красноярский край, Красноярск, ул. П. Железняка, д. 3-Г) rsimpn@scn.ru*

Подробная информация об авторах размещена на сайте
«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

Дефицит железа сопровождается многочисленными клиническими проявлениями и патогенез их изучен недостаточно. Особенно важным является изучение механизмов развития железодефицитного состояния в период роста и развития организма. В настоящее время недостаточно изученным является влияние латентного дефицита железа на структурно-функциональное состояние клеточных мембран, в целом, и эритроцитарных мембран, в частности. Нами установлено, что отличительными особенностями структурной организации мембран эритроцитов девочек-подростков и молодых женщин при латентном дефиците железа являются снижение микровязкости в поверхностных слоях липидного бислоя и увеличение трансмембранной проницаемости. Указанные мембранопатологические изменения в наибольшей степени выражены в период истощения запасов железа и уменьшаются в периоды железодефицитного эритропоэза и железодефицитной анемии. Кроме того, имеются возрастные особенности реакции мембран эритроцитов на дефицит железа, что выражается в большей подверженности эритроцитов активно растущего организма (девочек-подростков, особенно младшего подросткового возраста) мембранопатологическому действию сидеропении в сравнении с молодыми женщинами. Патогенетически обоснованным представляется дополнительное включение в схему лечения латентного дефицита железа препаратов, нормализующих жидкостное состояние липидов клеточных мембран – полиненасыщенных жирных кислот, витаминов А, Е, С, особенно в группе младшего подросткового возраста.

Как известно, скрытый дефицит железа часто является предстадией ЖДА и при отсутствии компенсации дефицита железа рано или поздно приводит к анемии. Если по данным ВОЗ ЖДА можно выявить у 1 788 600 000 жителей земли, то железодефицитное состояние – у 3 580 000 000, т. е. в 2 раза большее количество людей имеют сниженные запасы железа [3].

Важность изучения железодефицитных состояний (ЖДС) обусловлена их частотой и значимостью среди населения, особенно у девочек-подростков в период интенсивного роста и молодых женщин, что с большей долей вероятности можно объяснить интенсивным в этот период

ростом тела, созреванием половой сферы с появлением менструаций, а также ограниченным поступлением железа с пищей, что часто приводит к развитию его дефицита в организме. По данным ВОЗ, примерно 50% женщин детородного возраста в западных странах в той или иной степени страдают дефицитом железа [6]. В России около 12% женщин детородного возраста страдают ЖДА, при этом латентный дефицит железа в некоторых регионах нашей страны (Север, Восточная Сибирь, Северный Кавказ) достигает 50-60% [4]. В средней полосе России скрытый дефицит железа обнаруживается у 13,5 % женщин [2].

Распространенность ЖДА неодинакова в различных странах и зависит от со-

циально-экономических, климато-географических и эколого-производственных условий [7]. В развитых странах у детей в возрасте 5-14 лет она составляет 5,9%, в развивающихся – 48,1%. У женщин от 15 до 59 лет в развитых странах – 10,3%, в развивающихся – 42,3% [10]. По другим данным литературы, частота дефицита железа у девочек-подростков составляет 9-40% [5]. Дефицит железа, по Ю. Е. Малаховой, имеет место у ¼ школьников. Латентный дефицит железа (ЛДЖ) превышает частоту ЖДА [9]. Более 30% детей школьного возраста страдают дефицитом железа [6]. По мнению экспертов ВОЗ, если распространенность железодефицитных состояний (ЖДС) в стране превышает 30%, проблема перестает быть медицинской и требует решения на государственном уровне [11]. Данные официальной статистики МЗ РФ свидетельствуют о неуклонном росте заболеваемости анемией детей и подростков, особенно в последние годы [8, 10].

Дефицит железа сопровождается многочисленными клиническими проявлениями и патогенез их изучен недостаточ-

но, но предполагается влияние дефицита железа на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов. Особенно важным является изучение механизмов развития железодефицитного состояния в период роста и развития организма. Таким образом, в настоящее время недостаточно изученным является влияние латентного дефицита железа на структурно-функциональное состояние клеточных мембран, в целом, и эритроцитарных мембран, в частности.

Методика. Для решения поставленных в настоящем исследовании задач за период с 2003 года по 2007 год нами проведены клинические наблюдения и специальные биофизические исследования клеточных мембран у 285 девочек-подростков и молодых женщин в возрасте от 11 до 24 лет с различной степенью тяжести железодефицитного состояния. Молодые женщины не имели в анамнезе беременностей и родов. В качестве контроля обследовано 79 девочек-подростков и молодых женщин с функциональными заболеваниями пищеварительного тракта без нарушения обмена железа.

Таблица 1. Критерии выделения стадий дефицита железа, использованные в исследовании

Стадии дефицита железа		Параметры обмена железа		
		Гемоглобин, г/л	Ферритин, мкг/л	Сывороточное железо, мкмоль/л
1	Контрольная группа лиц без лабораторных признаков нарушения обмена железа	(≥120)	(≥38)	(≥12)
2	Латентный дефицит железа	Подгруппа с истощением тканевых запасов железа (2А)	↓ (<38)	норма (≥12)
		Подгруппа с железодефицитным эритропозом (2Б)	↓↓ (<38)	↓ (<12)
3	Железодефицитная анемия	↓ 120	↓↓ (<38)	↓ (<12)

Диагноз и тяжесть течения ЖДС верифицировали в соответствии с рекомендациями Международной классификации заболеваний и протокола ведения больных

железодефицитной анемией [12]. Учитывая стадийность развития дефицита железа, были выделены следующие группы и подгруппы: 1 – контрольная группа лиц

без лабораторных признаков нарушения обмена железа; 2 – группа латентного дефицита железа, подгруппа с истощением тканевых запасов железа (2А), подгруппа с железodefицитным эритропозом (2Б); 3 – группа железodefицитной анемии.

Лабораторные критерии для отнесения обследованных девочек и женщин в соответствующие группы и подгруппы представлены в табл. 1.

Физико-химические характеристики биологических мембран исследованы нами методами флуоресцентной спектроскопии в соответствии с рекомендациями Ю.А. Владимирова и Г.Е. Добрецова [1]. Все исследования биофизических характеристик мембран методом флуоресцентной спектроскопии (флюорометрии) проведены на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-4» (Япония). Использованы зонды: пирен, 1-аланинонафталин-8-сульфонат (АНС), нистатин. Мембраны эритроцитов выделены с помощью метода J.T. Dodge [13], с собственными модификациями. Для исследования мембран эритроцитов мы использовали по 300 мкл суспензии в круглых кварцевых кюветках с длиной оптического пути 5 мм.

Исследованы следующие биофизические характеристики мембран: 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 (ОЕ); микровязкость поверхностных мембранных структур (вращательной диффузии) проводили по параметрам поляризации (коэффициенту анизотропии) флуоресценции зонда АНС (ОЕ); текучесть глубоких областей липидного бислоя мембран определяли по отношению флуоресценции эксимеры/мономеры пирена (ОЕ); 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

(ОЕ); проницаемость эритроцитарных мембран по нистатину (ОЕ); кальций-связывающая способность мембран (ОЕ).

Статистическую значимость различий при сравнении двух несвязанных выборок анализировали с помощью критерия Манна-Уитни (U). Для оценки силы связи между признаками использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r^s). 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

В результате анализа лабораторных параметров обмена железа группа контроля составила 79 человек (27,7%), группа с истощением запасов железа – 83 человека (29,1%), группа с железodefицитным эритропозом – 38 человек (13,3%), группа с ЖДА – 85 человек (29,8%). Некоторые показатели молекулярной организации мембран эритроцитов в зависимости от степени железodefицитного состояния у обследованных нами девочек-подростков и молодых женщин отражены в табл. 2.

Проведенный нами анализ молекулярной организации эритроцитарных мембран у обследованных подростков и взрослых показал, что наибольшие изменения, характерные непосредственно для дефицита железа в организме без клинически значимого снижения уровня гемоглобина касаются в основном состояния липидного бислоя мембран, а точнее, микровязкости липидов в поверхностных слоях. Так, микровязкость в поверхностных областях мембраны была статистически значимо повышена в группах обследованных с латентным дефицитом железа по сравнению с группой ЖДА, причем, как у пациенток с истощением тканевых запасов железа ($p=0,03$), так и при железodefицитном эритропозе ($p=0,03$).

Причем, если в общей когорте обследованных нами не было найдено достоверных различий показателя поверхностной микровязкости с группой контроля, то такие различия четко выявляются при стратификации параметра по возрасту

(таб. 3). Из представленных данных следует, что с одной стороны, наиболее выраженные изменения микровязкости мы видим в группе младших подростков (12-14 лет), а с другой, что повышенная вязкость нормализуется или даже несколько снижается у пациенток с ЖДА. Кроме того, в стадию истощения запасов железа мы регистрируем тенденцию к увеличению микровязкости (снижения текучести) не только в поверхностных, но и в глубоких слоях мембраны (табл. 2). Таким образом, характерным влиянием сидеропении

на структуру эритроцитарной мембраны является увеличение ее жесткости, более выраженное в ее поверхностных, богатыми рецепторными структурами, областях. Патогенетическое влияние этой структурной особенности организации мембран может быть значительным, если учесть что подобные изменения, вероятно, характерны не только для эритроцитарной мембраны, но и для других мембранных структур организма, в частности для мышечной и нервной ткани.

Таблица 2. Показатели физико-химических свойств мембран эритроцитов у девочек подростков и молодых женщин при различной степени дефицита железа в организме

Параметры молекулярной организации мембран эритроцитов	Контроль n=79	Латентный дефицит железа		Анемия n=85	P
		Истощение запасов железа n=83	Железо-дефицитный эритропоэз n=38		
	0	1	2	3	
Флюоресценция триптофанилов, ЕФ	14,0 (11-19)	14,0 (11-17,5)	15,0 (12-20)	16,0 (12-22)	0-2=0,1 0-3=0,04 1-3=0,06
Микровязкость поверхностных слоев мембран, ОЕ	0,275 (0,205-0,347)	0,285 (0,234-0,407)	0,318 (0,222-0,416)	0,250 (0,2-0,318)	1-3=0,03 2-3=0,03
Текучесть в глубоких слоях мембраны, ОЕ	0,769 (0,555-0,866)	0,641 (0,471-0,823)	0,693 (0,428-0,818)	0,72 (0,5-0,833)	0-1=0,1

Вторым важнейшим показателем реакции эритроцитарных мембран, а возможно и мембран других клеток, на недостаток тканевого железа является параметр трансмембранной проницаемости, определенной нами по проникающей способности липидотропного зонда нистатина. Из представленных в таблицах 2 и 3 данных следует, что, также как и для показателя микровязкости, статистически значимые различия показателя проницаемости отсутствуют при анализе общей когорты обследованных, но четко выявляются при возрастном разделении. Как и в случае микровязкости, наиболее выраженное влияние сидеропении оказывает на мембрану девочек-подростков, особенно де-

вочек младшего подросткового возраста (табл. 3).

Таким образом, отличительными особенностями структурной организации мембран эритроцитов при латентном дефиците железа являются повышение микровязкости в поверхностных слоях липидного бислоя и увеличение трансмембранной проницаемости для липидотропных веществ. Дополнительные доказательства такой патогенетической связи были получены нами при проведении корреляционного анализа. Оказалось, что показатель общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) крови, прямо отражающий дефицит тканевого железа прямо коррелирует, как с микровязкостью в поверхностных структурах ($r=0,20$, $p < 0,001$),

так и с проницаемостью мембраны ($r=0,27$, $p < 0,001$).

Таблица 3. Показатели мембран эритроцитов (микровязкость поверхностных слоев и проницаемость мембран для нистатина) у девочек-подростков и молодых женщин при различной степени дефицита железа в организме

Показатель	Группы	Контроль n=79	Степени дефицита железа в организме			p
			Латентный дефицит железа		Анемия n=85	
			Истощение запасов железа n=83	Железодефицитный эритропоэз n=38		
0	1	2	3			
Микровязкость поверхностных слоев мембран, ОЕ	Девочки-подростки 12-14 лет (n=26)	0,284 (0,204-0,375)	0,349 (0,25-0,501)	0,318 (0,235-0,333)	0,250 (0,2-0,289)	0-1=0,1 1-3=0,00 4 2-3=0,04
	Девочки-подростки 15-18 лет (n=36)	0,258 (0,205-0,343)	0,276 (0,234-0,407)	0,338 (0,214-0,484)	0,270 (0,2-0,343)	2-3=0,1
	Молодые женщины 18-22 лет (n=17)	0,277 (0,214-0,307)	0,25 (0,222-0,307)	0,289 (0,204-0,333)	0,25 (0,22-0,3)	–
Проницаемость мембран по нистатину, ОЕ	Девочки-подростки 12-14 лет (n=26)	1,066 (0,6-2,066)	1,833 (1,066-2,283)	1,099 (0,933-1,333)	1,133 (0,766-2)	0-1=0,03 1-2=0,15 1-3=0,05
	Девочки-подростки 15-18 лет (n=36)	0,933 (0,699-1,4)	1,2 (1-2) (n=38)	1,311 (0,733-1,933) (n=19)	1,066 (0,666-1,8) (n=47)	0-1=0,03
	Молодые женщины 18-22 лет (n=17)	0,933 (0,733-1,066)	0,933 (0,8-1,4) (n=17)	0,933 (0,8-1) (n=9)	0,8 (0,6-1,666) (n=15)	–

Доказательств о влияния латентного содержания мембранных протеинов, степени дефицита железа на такие параметры, как степень их погруженности в липиды, органи-

зацию области белок-липидного взаимодействия, кальций-связывающую способность мембраны эритроцита в нашем исследовании получено не было. Однако полученные нами данные дополнительно свидетельствуют, что основным компонентом вовлечения эритроцитарных мембран в патогенез железодефицитного эритропоэза у девочек-подростков и молодых женщин является увеличение содержания мембранных протеинов (определенное по флюоресценции триптофанилов), которое выявляется уже на стадии латентного дефицита железа и достигает своего максимума при развитии железодефицитной анемии (табл. 2).

Таким образом, результаты проведенного исследования убедительно свидетельствуют о том, что собственно тканевой дефицит железа в значительной мере затрагивает метаболизм липидной части эритроцитарных, а, возможно, и других клеточных мембран организма, тогда как железодефицитный эритропоэз, как латентный, так и клинически значимый, в большей мере сопряжен с нарушением организации протеинового компонента эритроцита.

Выводы. Отличительными особенностями структурной организации мембран эритроцитов при латентном дефиците железа являются повышение микровязкости в поверхностных слоях липидного бислоя и увеличение трансмембранной проницаемости. Указанные мембранопатологические изменения в наибольшей степени выражены в период истощения запасов железа и уменьшаются в периоды железодефицитного эритропоэза и железодефицитной анемии.

Имеются возрастные особенности реакции мембран эритроцитов на дефицит железа, что выражается в большей подверженности эритроцитов активно растущего организма (девочек-подростков, особенно младшего подросткового возраста) мембранопатологическому действию сидеропении в сравнении с молодыми женщинами.

Патогенетически обоснованным представляется дополнительное включение в схему лечения латентного дефицита железа препаратов, нормализующих жид-

костное состояния липидов клеточных мембран – полиненасыщенных жирных кислот, витаминов А, Е, С, особенно в группе младшего подросткового возраста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Владимиров Ю.А. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран/ Ю.А. Владимиров, Г.Е. Добрецов. – М.: Наука, 1980. – 320 с.
2. Воробьев, А. И. Руководство по гематологии/ под ред. А. И. Воробьева. – М.: Ньюдиамед, 2005. в 3 т. – Т. 3. – 416 с. – с ил.
3. Воробьев П.А. Анемический синдром в клинической практике / П.А. Воробьев. – М.: Ньюдиамед, 2001. – 168 с.
4. Городецкий В.В. Железодефицитные состояния и железодефицитные анемии: диагностика и лечение (Методические рекомендации) / В.В. Городецкий, О.В. Годулян. – М.: ИД Медпрактика-М. – 2006. – 28 с.
5. Казюкова Т.В. Показатели обеспеченности железом девочек-подростков с ювенильными маточными кровотечениями/ Т.В. Казюкова, А.А. Левина, Г.А. Самсыгина, В.Ф. Коколина // Акушерство и гинекология. – 2004. – №1. – С. 51.
6. Козинец Г.И. Железодефицит – реальная опасность/ Г.И. Козинец, А.А. Левина, Д.А. Шмаров, О.А. Дягилева, И.Н. Наумова, О.В. Попова, Н.И. Стуклов, Л.Л. Шумилова, Г.К. Орлова, В.М. Погорелов // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11. – №8. – С. 464.
7. Козинец Г.И. Исследование системы крови в клинической практике / Г.И. Козинец, В.А. Макаров. – М.: Триада-Х, 1998. – 199с.
8. Назаренко М.Ю. Репродуктивное здоровье девочек-подростков высокоурбанизированного региона, методологические основы и организационные формы его сохранения: автореф. дис. ... канд. мед. наук/ М.Ю. Назаренко. – Томск, 2006. – 18с.
9. Римарчук Г. В. Аспекты нарушения состояния здоровья у девочек-подростков из региона с йодным дефицитом / Г.В. Римарчук, Л.И. Васечкина, И.Ю. Абрамова, Т.К. Юрина // Гинекология. – 2004. – № 3. – С. 154.

10. Тарасова И.С. Новые направления в диагностике, лечении и профилактике железодефицитных состояний / И.С. Тарасова, В.М. Чернов // *Consilium medicum*. – 2004. – Т.8. – №1. – С. 21.

11. Чернов В.М. «Железный клуб» России / В.М. Чернов // *Гематология и трансфузиология*. – 2004. – Т. 49. – № 5. – С. 47.

12. Протокол ведения больных железодефицитной анемией // *Проблемы стандартизации в здравоохранении*. – 2004. – №12. – С. 81.

13. Dodge J.T. The preparation and hemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes / J.T. Dodge, C. Mitchell, D. Hanahan // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 1980. – V.100, N1. – P. 119.

FE LATENT DEFICIT INFLUENCE ON THE STRUCTURALLY FUNCTIONAL CONDITION OF RED CELLS MEMBRANES OF GIRLS AND YOUNG WOMEN

S.Yu. Tereshenko, E.V. Kasparov, O.A. Pakhmutova
State institute SRI of Medical Problems of the Far North Region

Fe deficit is accompanied by large clinical displays, and their pathogenesis is not enough researched. Particularly important is the examination of mechanisms of Fe deficit condition development in stage of growth and development of organism. Nowadays, the influence of latent Fe deficit on structural-functional condition of cellular membranes as a whole, and on red cells membranes in particular, is not enough researched. We had ascertained that the distinctive features of structural organization of red cells membranes by girls and young women by latent Fe deficit are descent of microviscosity in superficial levels of lipidic bilayer and increase of transmembrane penetrability. The indicated membrane-pathological changes to the utmost are frank in stage of Fe reserves absorption and they decrease in stages of Fe deficient erythropoiesis and Fe deficient anemia. Moreover, there are age-specific features of red cells membranes reaction to Fe deficit, what speaks, that red cells of active growing organism (particularly girls in youngest growth) are more amenable to membrane-pathological sideropenia action comparing with young women. Pathogenetic substantiated is the additional inclusion of drugs into the treatment scheme, which normalize fluid condition of membrane cellular lipids – polyunsaturated fat acids, vitamins A, E, C, particularly in the group of youngest adolescence.