

УДК 612.017.2:616.8-053.5

МЕМБРАННЫЕ АСПЕКТЫ ВЕГЕТАТИВНОГО РЕАГИРОВАНИЯ И АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЗДОРОВЫХ ШКОЛЬНИКОВ^{1,2}Зайцева О.И., ¹Колодяжная Т.А., ¹Пуликов А.С., ¹Эверт Л.С., ²Деревцова С.Н.¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск,
e-mail: imprn@imprn.ru;²ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ, Красноярск,
e-mail: office@krascnil.ru

Вегетативную регуляцию у здоровых школьников и их адаптационные возможности на клеточном уровне изучали по показателям чувствительности эритроцитарных мембран к биорегуляторам вегетативной нервной системы с оценкой состояния структурных липидов и биофизического состояния мембран методами спектрофлуориметрии и тонкослойной хроматографии. Установлено, что адаптивными вариантами мембранного реагирования у школьников являются «сбалансированный холин-адрено-глюкокортикоидный» и «сбалансированный холинергический» типы реакций клеточных мембран, характеризующиеся оптимальным количественным содержанием структурных липидов и адекватными параметрами текучести, что отражает удовлетворительный вариант адаптации. «Адреноглюкокортикоидный» тип реакций характеризуется дислипидемическим состоянием липидной матрицы со снижением текучести глубоких слоев мембраны и соответствует состоянию напряженной адаптации, «гипосинергизм холин-адрено-глюкокортикоидный» тип реакций характеризуется дизадаптивным состоянием липидной структуры с формированием жесткой ригидной мембраны, что соответствует состоянию неудовлетворительной адаптации у школьников.

Ключевые слова: школьники, вегетативная регуляция, мембраны эритроцитов, адаптация

MEMBRANE ASPECTS OF AUTONOMIC REGULATION AND THE ADAPTIVE CAPACITY OF HEALTHY SCHOOLCHILDREN^{1,2}Zaitzeva O.I., ¹Kolodyazhnaya T.A., ¹Pulikov A.S., ¹Evert L.S., ²Derevtzova S.N.¹FSBSI «Medical Scientific Research Institute for Northern Problems», Krasnoyarsk,
e-mail: imprn@imprn.ru;²SBEE HPE «Krasnoyarsk State Medical Academy» named after Prof. V.F. Voino-Yasenezkiy,
Krasnoyarsk, e-mail: office@krascnil.ru

Autonomic regulation in healthy schoolchildren and their adaptation abilities at the cellular level examined in terms of the sensitivity of erythrocyte membranes bioregulators to the autonomic nervous system with the assessment of the state of structural lipids and biophysical methods spectrofluorometry state membranes and thin layer chromatography. It was found that the adaptive response, the membrane at the school are «balanced choline-adrenergic glucocorticoid» and «cholinergic balanced» reaction types of cell membranes, characterized by an optimal quantitative content of the structural lipid parameters and adequate strength, which reflects a satisfactory adaptation options. «Adrenoglyukokortikoidny» type of reactions characterized dyslipidemic state of the lipid matrix with a reduction in stress and deep layers of the membrane corresponds to the hard adaptation, «giposinergizm choline-adrenergic glucocorticoid» type of reaction is characterized by maladaptive state of the lipid to form a rigid structure of a rigid membrane, which corresponds to the state of unsatisfactory adaptation of schoolchildren.

Keywords: schoolchildren, autonomic regulation, the erythrocyte membrane, adaptation

Изучение адаптационно-приспособительных возможностей детского организма с позиций системной организации функций, включая клеточно-молекулярный уровень, представляет собой одно из фундаментальных направлений в физиологии и медицине [7]. Нейрохимические процессы в функциональных системах, в том числе и вегетативной, осуществляются при участии клеточных мембран, являющихся метаболической и регуляторной базой для процессов интеграции на уровне всего организма [1]. Зачастую на клеточном уровне формируются доклинические признаки вегетативной дисрегуляции. Целью исследования является изучение вегетативной регуляции на уровне клеточных мембран с учетом особенностей липидной компо-

ненты биомембран у здоровых школьников, что необходимо для оценки их индивидуальной адаптации.

Материалы и методы исследования

Обследовано 84 школьника г. Красноярск в возрасте от 7 до 15 лет. Учащимся проведено соматоневрологическое обследование с расширенным изучением функционального состояния вегетативной нервной системы (ВНС) методом кардиоинтервалографии (КИГ) с определением исходного вегетативного тонуса (ИВТ) [2, 3]. Дети имели средние показатели физического и полового развития.

Регуляторные возможности на клеточном уровне оценивались при помощи микрофлуориметрии на спектрофлуориметре MPF-4 («Hitachi») [5]. Использовался флуоресцентный зонд хлорететрациклин (ХТЦ) для проведения функциональных проб с экзогенными биорегуляторами ВНС: ацетилхолином,

адреналином и дексаметазоном. Флуоресцентный зонд ХТЦ вводился в суспензию мембран эритроцитов *in vitro* с биорегуляторами ВНС в физиологических дозах. Оценивалась динамика флуоресценции зонда ХТЦ по пиковым и скоростным показателям. Вышеуказанным методом изучены физико-химические свойства мембран эритроцитов с определением текучести глубоких слоев мембран по эксимеризации зонда пирена и вязкости поверхностных структур по анизотропии зонда 1-анилинонафталин-8-сульфонат (АНС) [4]. Результаты выражали в относительных единицах (отн.ед.). Вычисляли показатель текучести поверхностных слоев мембран – 1/ показатель вязкости поверхностных структур. Исследование липидной структуры мембран эритроцитов проводили при помощи метода тонкослойной хроматографии [6]. Определяли величины липидных компонентов: для нейтральных липидов – общие фосфолипиды (ОФЛ), свободный холестерол (СХС), свободные жирные кислоты (СЖК), триацилглицериды (ТГ); для фосфолипидов – лизофосфатидилхолин (ЛФХ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилсерин+фосфатидилинозитол (ФС+ФИ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА). Результаты содержания фракций выражали в процентах. Вычисляли интегральные коэффициенты: ОФЛ/СХС, СЖК/ТГ, ФЭА/ФХ.

Цифровой материал обработан стандартным пакетом программ STATISTICA, ver. 6.0. Количественные признаки оценивались с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (M–W) при сравнении двух несвязанных выборок. Для множественного сравнения более чем двух выборок – критерий Крускала-Уоллиса (K–W). Количественные параметры представлены в виде Me – медиана, 10–90% – процентиля. Качественные признаки представлены в виде абсолютных и относительных (в%). Анализ зависимости признаков проводился с помо-

щью непараметрического коэффициента корреляции по Спирмену. Изменения считались статистически значимыми при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Выделены следующие варианты мембранной реактивности клеток согласно запатентованному нами способу [5]. Полученные данные представлены в табл. 1.

1. Адекватный функциональный стереотип клеточной мембраны – распространенный среди здоровых детей: «сбалансированный холин-адрено-глюкокортикоидный тип реакций» (СХАГ-тип, 39,3% случаев) с оптимальной чувствительностью эритроцитарных мембран ко всем биорегуляторам, отражающий равновесное состояние клеточных механизмов вегетативной регуляции. Он характеризовался совпадением характера регуляции на уровне клетки и на уровне целого организма (78,8% детей с ИВТ-эйтонией), формировал у этих детей удовлетворительную адаптацию и являлся контрольным; «сбалансированный холинергический тип реакций» (СХ-тип, 32,1% случаев) – с преобладающей реакцией эритроцитарных мембран на АХ ($P < 0,001$) в сравнении с контролем, проявляющийся совпадением характера регуляции на различных уровнях организации биосистемы, включая организменный (в равной степени дети с ИВТ-ваготонией и с ИВТ-эйтонией).

Таблица 1

Показатели реактивности мембран эритроцитов при нагрузочных пробах с биорегуляторами у здоровых детей (в условных единицах)

Показатели флуоресценции зонда ХТЦ с биорегуляторами		Типы реактивности				Статистическая значимость (P)	
		СХАГ-тип n = 33	СХ-тип n = 27	АГ-тип n = 17	ГХАГ-тип n = 7	по M–W	по K–W
		[1]	[2]	[3]	[4]		
ФЛ пик. АХ (усл. ед.)	Me	31,00	31,00	25,00	25,00	P1–3 < 0,001 P1–4 < 0,001	p < 0,001
	10–90%	29,00–34,00	29,00–36,00	29,00–36,00	19,00–27,00		
V включ. АХ (усл. ед./мин)	Me	0,74	0,77	0,35	0,50	P1–3 < 0,001 P1–4 < 0,001	P < 0,001
	10–90%	0,57–0,94	0,59–0,98	0,20–0,61	0,24–0,88		
ФЛ пик. АД (усл. ед.)	Me	30,50	25,00	29,50	24,50	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0040	P < 0,001
	10–90%	26,00–36,00	20,50–28,00	26,00–32,00	19,50–29,00		
V включ. АД (усл. ед./мин.)	Me	0,77	0,42	0,74	0,47	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0030	P < 0,001
	10–90%	0,50–0,95	0,16–0,60	0,55–0,96	0,18–0,54		
ФЛ пик. ДМЗ (усл. ед.)	Me	30,00	25,00	30,00	25,00	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0020	P < 0,001
	10–90%	27,00–34,50	21,80–28,50	27,00–36,00	21,00–30,50		
V включ. ДМЗ (усл. ед./мин.)	Me	0,86	0,44	1,01	0,41	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0109	P < 0,001
	10–90%	0,52–1,20	0,30–0,57	0,51–1,15	0,29–0,98		

2. «Адреноглюкокортикоидный тип реакций» (АГ-тип) – менее многочисленный тип биомембран (20,2%), характеризующийся высокой симпатической активностью клеточного звена вегетативной регуляции параметрам флуоресценции на АД и ДМЗ ($P < 0,001$) в сравнении с контролем и совпадением характера регуляции на различных уровнях организации биосистемы, включая организменный (в 45,3% случаев дети с ИВТ-симпатикотонией), что отражает напряженный вариант адаптации.

3. «Гипосинергизм холин-адрено-глюкокортикоидный тип реакций» (ГХАГ-тип) – самый малочисленный тип биомембран (8,3%) со сниженной реакцией клеточных мембран на все биорегуляторы ($P < 0,01$ – $P < 0,001$), отражающий функциональную слабость физиологических механизмов регуляции с возможным их истощением. В эту группу вошли дети с различным ИВТ, что свидетельствовало о несоответствии между различными уровнями регуляции (клеточным и целостного организма) и расценивалось как доклинические проявления синдрома вегетативной дисфункции и отражает неудовлетворительную адаптацию у этих детей.

Проведен анализ содержания липидов в мембранах у здоровых детей в зависимости от типа реактивности клеточных мембран. Результаты представлены в табл. 2 и 3.

Для эритроцитарных мембран СХАГ-типа реактивности характерно оптимальное соотношение мембраностабилизирующих и легкоокисляемых холинсодержащих фракций (ОФЛ/СХС $0,61 \pm 0,02$ отн. ед., СЖК /ТГ $1,12 \pm 0,07$ отн. ед., ФЭА/ФХ

$1,33 \pm 0,06$ отн. ед.) и при низком уровне детергентной фракции ЛХФ. Показатели СХАГ-типа использованы в качестве контрольных. Биомембраны СХ-типа реактивности в метаболическом плане более лабильны: накопление в мембране легкоокисляемой фракции ФЭА ($P = 0,0380$) и повышение, соответственно, соотношения ФЭА/ФХ ($1,66 \pm 0,10$ отн. ед. в сравнении с контролем $1,33 \pm 0,06$ отн. ед., $P = 0,0006$). Однако в целом показатели структурных липидов приближались к оптимальному варианту. Структуре эритроцитарных мембран АГ-типа реактивности свойственны признаки дестабилизации, соответствующие в целом адренергическому состоянию: снижение ОФЛ ($P = 0,0035$) при тенденции к увеличению СХС ($P = 0,0581$), что сказывается на уменьшении коэффициента ОФЛ/СХС ($0,51 \pm 0,03$ отн. ед. в сравнении с контролем $0,61 \pm 0,02$ отн. ед., $P = 0,0024$). В эритроцитарных мембранах ГХАГ-типа реактивности наряду с дестабилизационными признаками, соответствующими АГ-типу реактивности: снижение ОФЛ ($P = 0,0093$) и коэффициента ОФЛ/СХС ($0,47 \pm 0,04$ отн. ед. в сравнении с контролем $0,61 \pm 0,02$ отн. ед., $P = 0,0037$), обнаруживается дополнительный дестабилизирующий фактор в виде повышения СЖК ($P = 0,0133$), что служит доказательством интенсификации процессов перекисного окисления липидов и направлено на дестабилизацию мембраны.

Вариабельность содержания структурных липидов сказывается на физико-химическом состоянии мембраны. Результаты исследований представлены в табл. 4.

Таблица 2

Содержание фракций нейтральных липидов в мембранах эритроцитов у здоровых детей с учетом типа реактивности клеточных мембран (в % от суммы всех фракций)

Показатели фракций нейтральных липидов в мембранах эритроцитов		Типы реактивности				Статистическая значимость (P)	
		СХАГ-тип n = 33	СХ-тип n = 27	АГ-тип n = 17	ГХАГ-тип n = 7	по М–W	по К–W
		[1]	[2]	[3]	[4]		
ОФЛ	Ме	28,86	27,83	26,73	25,64	P1–3 < 0,001 P1–4 < 0,001	P < 0,001
	10–90 %	24,19–36,10	20,20–34,00	18,65–29,30	11,33–27,55		
СХС	Ме	46,80	45,92	48,72	49,28	P1–3 < 0,001 P1–4 < 0,001	P < 0,001
	10–90 %	14,19–52,62	40,85–54,01	42,07–57,73	43,16–54,20		
СЖК	Ме	11,36	11,41	12,53	14,78	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0040	P < 0,001
	10–90 %	8,21–14,69	7,29–16,16	10,18–17,32	11,20–25,00		
ТГ	Ме	12,71	13,19	12,39	11,25	P1–2 < 0,001 P1–4 = 0,0030	P < 0,001
	10–90 %	7,66–17,91	8,06–19,93	6,36–17,77	4,51–20,08		

Таблица 3

Содержание фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов у здоровых детей с учетом типа реактивности клеточных мембран (в % от суммы всех фракций)

Показатели фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов		Типы реактивности				Статистическая значимость (P)	
		СХАГ-тип n = 33	СХ-тип n = 27	АГ-тип n = 17	ГХАГ-тип n = 7	по M-W	по K-W
		[1]	[2]	[3]	[4]		
ЛФХ	Me	2,68	2,38	2,91	5,05	P1-3 < 0,001 P1-4 < 0,001	P < 0,001
	10-90 %	1,77-4,25	1,95-4,53	2,09-4,77	2,74-6,39		
СМ	Me	17,89	17,55	17,81	19,35	P1-3 < 0,001 P1-4 < 0,001	P < 0,001
	10-90 %	13,10-22,38	10,09-20,10	14,75-25,30	12,31-25,40		
ФХ	Me	31,90	28,31	30,94	29,85	P1-2 < 0,001 P1-4 = 0,0040	P < 0,001
	10-90 %	27,13-38,62	19,45-32,12	20,40-43,90	24,42-43,10		
ФИ + ФС	Me	7,41	7,64	7,35	10,81	P1-2 < 0,001 P1-4 = 0,0030	P < 0,001
	10-90 %	5,72-16,21	5,82-16,6	5,46-16,60	4,67-16,21		
ФЭА	Me	40,82	43,52	41,94	33,82	P1-2 = 0,0380 P1-4 = 0,0030	P < 0,001
	10-90 %	24,96-44,51	36,54-50,86	25,82-46,76	26,33-44,46		

Таблица 4

Физико-химические показатели мембран эритроцитов у здоровых детей в зависимости от типа реактивности клеточных мембран (в относительных единицах)

Анализируемые показатели		Типы реактивности				Статистическая значимость (P)	
		СХАГ-тип n = 33	СХ-тип n = 27	АГ-тип n = 17	ГХАГ-тип n = 7	по M-W	по K-W
		[1]	[2]	[3]	[4]		
Текучесть поверхностных слоев мембраны (анизотропия АНС)	Me	3,85	4,17	3,85	2,85	P1-2 = 0,0318 P1-4 = 0,0104	P = 0,0335
	10-90 %	3,33-4,55	3,33-5,26	2,44-4,55	2,38-4,35		
Текучесть глубоких слоев мембраны (эксимеризация пирена)	Me	0,38	0,40	0,31	0,26	P1-2 = 0,0284 P1-3 = 0,0287 P1-4 = 0,0162	P = 0,0254
	10-90 %	0,28-0,48	0,35-0,66	0,16-0,43	0,20-0,40		

СХАГ-типу реактивности клеточных мембран соответствует стабильное состояние липидной матрицы с оптимальными показателями текучести поверхностных и глубоких слоев, которые приняты в качестве контроля. Физико-химические свойства эритроцитарных мембран у детей с СХ-типом реактивности в сопоставлении с контролем характеризуются повышением текучести поверхностных ($P = 0,0318$) и глубоких ($P = 0,0284$) слоев, что свидетельствует о повышении функциональной активности мембраны и отражает ее лабильность. Физико-химическое состояние биомембран у детей с АГ-типом реактивности

в сопоставлении с контролем характеризуется статистически значимым снижением показателя текучести глубоких слоев мембраны ($P = 0,0287$). Полученные данные свидетельствуют об увеличении силы притяжения липидов в клеточной мембране и, соответственно, снижении способности свободного перемещения в пределах бислоя. У детей с ГХАГ-типом реактивности физико-химическое состояние клеточных мембран характеризуется в сопоставлении с контролем статистически значимым уменьшением показателей текучести поверхностных ($P = 0,0104$) и глубоких слоев мембраны ($P = 0,0162$), что затрудняет ра-

боту мембранных структур и отражает состояние перенапряжения звеньев регуляции в клеточной подсистеме.

Анализ корреляционных связей показывает, что физико-химическое состояние клеточных мембран зависит от количественного содержания легко и трудноокисляемых мембранных липидов. Наиболее выражены корреляционные взаимосвязи в группе детей с ГХАГ-типом реактивности: уровень текучести глубоких слоев мембран имеет положительную корреляционную связь с содержанием трудноокисляемого фосфолипида СМ ($R = 0,86$, $P = 0,0137$, для $N = 7$) и отрицательную – с фракцией СХС ($R = -0,82$, $P = 0,0234$, для $N = 17$). Наряду с этим наблюдается отрицательная корреляционная связь между текучестью поверхностных слоев мембран и мембраностабилизирующей фракцией ФХ ($R = -0,86$, $P = 0,0137$, для $N = 7$) и положительная – с суммарной легкоокисляемой фракцией ФИ + ФС ($R = 0,89$, $P = 0,0068$, для $N = 7$). Установление большего числа корреляционных связей у детей с ГХАГ-типом реактивности отражает состояние перенапряжения звеньев регуляции в клеточной подсистеме.

Заключение

Предложены новые критерии объективной оценки адаптационных возможностей здоровых детей с выделением различных вариантов адаптации: удовлетворительной, напряженной и неудовлетворительной. В основу градации функциональных состояний положены исследования различных уровней вегетативной регуляции, включая уровень клеточных мембран: по реакции вегетативного ответа плазматической мембраны на биорегуляторы ВНС, параметрам структурно-функциональной организации и физико-химическим свойствам биомембран.

Список литературы

1. Адаптивные вариации фосфолипидного состава мембран эритроцитов у детей различных регионов Сибири / Зайцева О.И., Терещенко В.П., Колодяжная Т.А., Дворяшина Е.М. // Сибирское медицинское обозрение. – 2008. – № 3(51). – С. 18–21.

2. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей и риск развития заболеваний. – М.: Медицина, 1997. – С. 27–195.

3. Белоконов Н.А., Кубергер М.Б. Болезни сердца и сосудов у детей: руководство для врачей. – М.: Медицина, – 1987. – Т. 1. – 447 с.

4. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Медицина, 1980. – С. 51–130.

5. Зайцева О.И., Терещенко В.П., Прахин Е.И. «Способ определения типов клеточной реактивности у детей» // Патент РФ № 2231792. 2004. Бюл. 18.

6. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. Количественное определение липидных фракций плазмы крови // Лабораторное дело. – 1982. – № 4. – С. 26–29.

7. Клинико-антропометрическая характеристика и вегетативная регуляция у лиц юношеского возраста, больных сколиозом / Ермошкина А.Ю., Фёфелова В.В., Манчук В.Т., Казакова Т.В. – Красноярск, 2011. – 107 с.

References

1. Adaptivnye variacii fosfolipidnogo sostava membran eritrocitov u detej razlichnyh regionov Sibiri / Zajceva O.I., Tereshhenko V.P., Kolodjzhnaja T.A., Dvorjashina E.M. // Sibirskoe medicinskoe obozrenie. 2008. no. 3(51). pp. 18–21.

2. Baevskij P.M., Berseneva A.P. Ocenka adaptacionnyh vozmozhnostej i risk razvitiya zabolevanij. M.: Medicina, 1997. pp. 27–195.

3. Belokon N.A., Kuberger M.B. Bolezni serdca i sosudov u detej: rukovodstvo dlja vrachej. M.: Medicina, 1987. T. 1. 447 p.

4. Vladimirov Ju.A., Dobrecov G.E. Fljuorescentnye zondy v issledovanii biologicheskikh membran. M.: Medicina, 1980. pp. 51–130.

5. Zajceva O.I., Tereshhenko V.P., Prahin E.I. «Sposob opredelenija tipov kletочноj reaktivnosti u detej» // Patent RF no. 2231792. 2004. Bjul. 18.

6. Rostovcev V.N., Reznik G.E. Kolichestvennoe opredelenie lipidnyh frakcij plazmy krovi // Laboratornoe delo. 1982. no. 4. pp. 26–29.

7. Kliniko-antropometricheskaja harakteristika i vegetativnaja reguljacija u lic junosheskogo vozrasta, bolnyh skoliozom / Ermoshkina A.Ju., Fefelova V.V., Manchuk V.T., Kazakova T.V. Krasnojarsk, 2011. 107 p.

Рецензенты:

Смирнова О.В., д.м.н., заведующая лабораторией клинической патофизиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт проблем Севера», г. Красноярск;

Поливанова Т.В., д.м.н., г.н.с. клинического отделения патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт проблем Севера», г. Красноярск.