

© Коллектив авторов, 2009

Т.И. Туркина, С.Ю. Семькин, Т.Ю. Капустина, Д.В. Мартыновский, Г.Р. Мутовин

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва

Целью работы явилось изучение патогенетически значимых биохимических параметров метаболизма липидов эритроцитарных мембран у 36 детей в возрасте 7–15 лет, больных муковисцидозом (МВ). В качестве группы сравнения обследованы 20 здоровых детей того же возраста. Комплекс методов обследования больных МВ включал определение липидного и фосфолипидного спектра мембран эритроцитов методом тонкослойной хроматографии липидов. У детей с МВ соотношение фракций липидов и фосфолипидов мембран эритроцитов нарушается в зависимости от степени тяжести заболевания и наличия осложнений. Выявленные нами изменения липидного состава биомембран указывают на формирование дисфосфолипидного синдрома, обуславливают нарушение проницаемости, осмотической резистентности, энергетики клеток организма и приводят к формированию специфических осложнений. Представленные нами материалы показывают перспективность дальнейшего изучения метаболических нарушений при МВ у детей для понимания сущности этого заболевания и разработки обоснованной гипополипидемической и мембраностабилизирующей терапии.

Ключевые слова: дети, муковисцидоз, метаболизм липидов, эритроцитарная мембрана.

The objective of present study was to investigate pathogenetically important biochemical parameters of lipid metabolism in erythrocytic membranes in cases of cystic fibrosis (CF). Examination was performed in 36 children aged 7–15 years with CF and in 20 healthy children at same age (control group). Examination included determination of lipid and phospholipids spectrum of erythrocytic membrane by method of thin lipid chromatography. Lipid/phospholipids fraction ratio in children with CF was changed in dependence on CF severity and on presence of complication. Changes of biomembranes lipid composition show on forming of dysphospholipid syndrome, define disorders of permeability, osmotic resistance and energetic of cells in organism and lead to development of specific complications. Data of present study prove importance of further investigations of metabolic disorders in CF patients in order to determinate mechanisms of this pathology and to outwork pathogenetically proved hypolipidemic and membrane-stabilizing therapy.

Key words: children, cystic fibrosis, lipid metabolism, erythrocytic membrane.

В настоящее время большинство заболеваний у детей рассматриваются как состояния, сопряженные с поражением клеточных мембран, являющихся одним из основных компонентов клетки или структурно-функциональной единицы многоклеточного организма. Возможность использования мембран эритроцитов крови для оценки функционирования клеток при муковисцидозе (МВ) позволяет рассматривать в них характер нарушений липидного обмена.

Большая распространенность МВ в детском возрасте, его тяжелое и прогрессирующее течение

являются объективными факторами для более углубленного изучения патогенеза этого заболевания [1–4]. Поэтому вопрос о морфофункциональных изменениях клеточных мембран и механизмах их повреждения при МВ у детей приобретает самостоятельное значение. Функциональное состояние эритроцитов при этом заболевании практически не изучено. Комплексное исследование липидного и фосфолипидного спектра мембран эритроцитов у этого контингента детей также не проводилось.

Целью настоящего исследования явилось изу-

Контактная информация:

Туркина Татьяна Ивановна – докт. биол. наук, проф. каф. медицинской генетики

ГОУ ВПО РГМУ Росздрава

Адрес: 117937 г. Москва, Островитянова, 1

Тел.: (495) 434-94-52

Статья поступила 05.06.09, принята к печати 20.01.10.

Таблица

Спектр липидов и фосфолипидов мембран эритроцитов у детей, больных МВ

Группы детей	Спектр липидов, %					Спектр фосфолипидов, %				
	ФЛ	СХ	НЭЖК	ТГ	ЭХ	ЛФТХ	СФМ	ФТХ	ФТЭА	КЛ
1-я (n=13)	31,20± 3,11 ³	43,43± 1,78	2,76± 0,53	3,73± 1,27	18,88± 2,63 ³	4,47± 0,73	12,86± 0,95 ²	46,60± 1,69	33,70± 1,76	2,37± 1,01
2-я (n=23)	30,31± 3,26 ³	49,96± 3,60 ¹	3,50± 1,08	3,06± 1,42	13,17± 4,01 ³	5,95± 0,68 ²	12,06± 1,76 ²	47,01± 1,28 ¹	32,10± 1,40 ¹	2,88± 1,05 ¹
3-я (n=11)	31,04± 2,76 ³	45,97± 1,39 ¹	2,62± 0,48	3,32± 1,07 ¹	17,05± 2,36 ³	5,98± 0,66 ²	11,94± 0,99 ³	48,61± 1,37 ²	31,50± 1,42 ¹	1,97± 1,09
4-я (n=7)	28,46± 2,64 ³	46,42± 2,35	2,63± 0,57	2,86± 1,08	19,63± 2,95 ³	4,25± 0,68	12,63± 1,51 ¹	48,51± 1,37 ²	32,46± 1,24 ¹	1,64± 0,94
Сравнения (n=20)	51,52± 0,91	41,8± 1,10	1,16± 0,65	0,73± 0,65	5,01± 0,63	1,94± 0,99	18,50± 1,42	43,70± 0,68	35,80± 0,99	0,60± 0,01

¹p<0,05, ²p<0,01, ³p<0,001 по сравнению с группой сравнения.

чение особенностей липидного обмена клеточных мембран эритроцитов при МВ у детей.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 36 детей с МВ в возрасте 7–15 лет. При оценке по шкале Швахмана–Брасфилда в модификации С.В. Рачинского и Н.И. Капанова среднетяжелое течение МВ диагностировано у 36,1% больных (1-я группа), преобладало тяжелое течение заболевания с ранней манифестацией кишечного и респираторного синдрома у 63,8% больных (2-я группа). У многих пациентов тяжесть заболевания усугублялась присоединением осложнений МВ: билиарный цирроз печени у 30,5% (3-я группа), желчнокаменная болезнь (ЖКБ) – у 19,4% (4-я группа). В качестве группы сравнения обследованы 20 здоровых детей того же возраста.

Были изучены показатели липидного обмена мембран эритроцитов у больных МВ.

С этой целью применяли метод тонкослойной хроматографии для определения липидного и фосфолипидного спектра мембран эритроцитов у детей в зависимости от тяжести течения МВ и наличия осложнений: спектр липидов – фосфолипиды (ФЛ), свободный холестерин (СХ), незэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖК), триглицериды (ТГ), эфиры холестерина (ЭХ); спектр фосфолипидов – лизофосфатидилхолин (ЛФТХ), сфингомиелин (СФМ), фосфатидилхолин (ФТХ), фосфатидилэтанолламин (ФТЭА), кардиолипин (КЛ). Полученные данные были обработаны методом вариационной статистики с использованием пакета статистических программ Stat Soft 6,0.

Результаты и их обсуждение

Нарушения липидного обмена у больных МВ, проявляющиеся нарушениями липидной и фосфолипидной фаз мембран эритроцитов, имели как общие черты, так и индивидуальные особенности в каждой группе. Результаты показали, что такие

изменения нарастают параллельно с ростом степени тяжести заболевания (см. таблицу).

Так, у детей со среднетяжелым течением МВ (1-я группа) отмечалось уменьшение относительного содержания общего количества ФЛ, увеличение ЭХ (p<0,001 и p<0,001 соответственно) по сравнению с уровнем такового у здоровых детей. Коэффициент отношения ХС/ФЛ составил 1,97 (в норме – 0,91). В фосфолипидном спектре происходило уменьшение относительного содержания СФМ (p<0,01).

Наиболее выраженные нарушения жирового обмена были выявлены у детей с тяжелым течением МВ, а также при МВ, осложненном циррозом печени (2-я и 3-я группы). В обеих группах отмечалось уменьшение концентрации ФЛ (p<0,001), увеличение содержания СХ и ЭХ, которые в совокупности с гиперкетонемией обуславливали общую интоксикацию организма и способствовали мембранолитическим процессам. Коэффициент отношения ХС/ФЛ в 2 раза превышал нормальные значения.

У детей с МВ, осложненным циррозом печени, была повышена концентрация ТГ (p<0,05) по сравнению с группой здоровых детей, что свидетельствовало о включении механизмов долговременной адаптации (благодаря переключению обмена веществ с преимущественно углеводного на преимущественно липидный) с последующим развитием хронической стрессовой реакции, при которой с целью энергообеспечения происходит мобилизация ТГ из депо.

При анализе содержания фракций фосфолипидов в эритроцитах обнаруживалось «обогащение» ФТХ фосфолипидного пула эритроцитов во 2-й и 3-й группах (p<0,05 и p<0,01 соответственно).

Как мы ранее установили [5], у таких больных относительное содержание ФТХ в сыворотке крови по сравнению с группой здоровых детей снижалось до 59,7±3,08 и 61,2±2,46% (при норме

68,50±1,90%; $p < 0,05$ и $p < 0,05$ соответственно). По-видимому, такое перераспределение ФТХ в системе «плазма-эритроциты» носит компенсаторный характер и направлено на поддержание стабильности клеточных мембран.

Причины изменения содержания ФТХ разнообразны и могут быть обусловлены нарушением его синтеза de novo, расходом в энергетических процессах и антиокислительных функциях. Влияние на уровень ФТХ также может оказывать активность эндогенных фосфолипаз.

Повышение ФТХ в мембранах эритроцитов в условиях гипоксии, сопутствующей МВ на фоне активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), может свидетельствовать об увеличенном потреблении данной фракции в свободно-радикальных реакциях [6].

К выявленным особенностям фосфолипидограммы эритроцитов относятся уменьшение процентного содержания СФМ, ФТЭА, повышение концентрации цитотоксической фракции ЛФТХ у больных МВ с тяжелым течением заболевания и у больных МВ, осложненном циррозом печени.

Снижение содержания СФМ в эритроцитарных мембранах может зависеть от степени активации сфингомиелитазы, которая в норме локализована в эритроцитах [7] и активность которой ингибируется в условиях, при которых активируется фосфолипаза А₂. Не исключено, что снижение уровня СФМ свидетельствует о депрессии иммунной системы у больных МВ, так как с этой фракцией фосфолипидов связывают некоторые иммунологические изменения [8].

Повышение концентрации ФТХ и уменьшение содержания ФТЭА у больных МВ, по-видимому, указывают на снижение активности антиокислительной системы, которая одной из первых реагирует на повреждения клеточных мембран. Изменение ее деятельности является сигналом для ядерных РНК, усиливающих в момент опасности синтез белков, необходимых для жизнеобеспечения клетки.

Если активность ПОЛ превышает физиологические потребности, то под влиянием «окислительного стресса» развивается мембранная патология. При сильных и длительных стрессовых реакциях, когда истощается потенциал антиоксидантных систем, активизируется свободно-радикальное окисление липидов, в результате чего возникает разобщение окисления с фосфорилированием, индуцируется аутокаталитическая деструкция мембран и хроматина. Основными повреждающими факторами становятся НЭЖК, которые накапливаются вследствие избыточного гидролиза ФЛ, а также лизофосфолипиды и продукты ПОЛ. В мембранах повышается содержание фосфолипидов с насыщенными жирными кислотами. «Жидкость» мембран уменьшается.

Как теперь установлено, ФТЭА играет важную

роль в регуляции транспорта Ca²⁺, а также в функционировании многих ферментных комплексов. Уменьшение количества данного фосфолипида свидетельствует о понижении биоэнергетических процессов в эритроцитах при МВ.

При определении минорных фракций обращали на себя внимание два обстоятельства. Во-первых, у детей с тяжелым течением МВ повышено до 3% содержание КЛ, который у здоровых детей обнаруживается только в следовых количествах. Данный факт представляет интерес в том отношении, что КЛ является составным компонентом организации и функционирования фермент-фосфолипидных комплексов биологических мембран. Возможно, что увеличение содержания КЛ в крови обусловлено изменением активности ферментов дыхательной цепи [9], при МВ тканевое дыхание замедляется из-за малоэффективной работы цикла Кребса, связанной с недостаточностью субстрата окисления.

Во-вторых, отмеченное нами увеличение содержания ХС в эритроцитах сопровождалось усилением процессов его эстерификации и повышением уровня ЛФТХ в группе больных МВ с тяжелым течением и в группе больных МВ, осложненным циррозом печени ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). По-видимому, при МВ имеет место повышение активности фосфолипаз А₁ и А₂, под влиянием которых образуются довольно токсичные жирные кислоты и еще более агрессивные лизоформы фосфолипидов, в частности, ЛФТХ. Накопление его в эритроцитах приводит к заметным нарушениям формы клетки и стабильности мембран вплоть до гемолиза эритроцитов.

Повышение уровня ЛФТХ и ФТХ у детей этих групп приводило к снижению индекса стабильности клеточных мембран (ИСКМ = ФТХ/ЛФТХ), особенно у детей, больных МВ с тяжелым течением (ИСКМ=10,5), по сравнению с этим показателем у здоровых детей (ИСКМ=22,5), что свидетельствовало о более низкой стабильности клеточных мембран у этих больных и, следовательно, о меньшей их функциональной активности.

Исследование липидного и фосфолипидного состава мембран эритроцитов у детей с МВ выявило ряд особенностей становления липидного метаболизма в зависимости от такого осложнения, как ЖКБ (4-я группа): отмечалось достоверное уменьшение процентного содержания общих ФЛ, СФМ, ФТЭА ($p < 0,001$; $p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно) и увеличение концентрации ЭХ и ФТХ ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно).

Такое изменение фракционного состава липидов, по-видимому, обуславливает неполноценность ферментных систем у больных МВ. Нарушение обмена фосфолипидов в результате снижения активности превращения ФТХ в ФТЭА создает угрозу дефицита синтеза холина и лецитина и на фоне нарастающей дислипидемии, отмечен-

ной нами ранее [5], свидетельствует о возможном снижении липотропного эффекта в печени. Нарушение физико-химического состава желчи у больных МВ ведет к замедлению печеночно-кишечного кругооборота желчи и создает условия для развития холестатического синдрома, что приводит к глубоким нарушениям на уровне гепатоцитов, свидетельством которых является измененный фосфолипидный спектр мембран эритроцитов. Сопутствующая МВ хроническая гипоксия существенным образом влияет на обмен фосфолипидов клетки, следствием чего, по-видимому, является изменение антиокислительной активности мембранных фосфолипидов в результате уменьшения количества легкоокисляющейся фракции ФТЭА ($p < 0,05$).

Повышение молярного отношения ХС/ФЛ более чем в 2,5 раза у этой группы больных приводит к изменению текучести липидной фазы клетки и нарушению ее функциональных свойств.

Заключение

Итак, у обследованных нами больных МВ в связи с панкреатической недостаточностью происходит нарушение всасывания липидов, которое ведет к возникновению дислипидемии и изменению спектра липидов биологических мембран.

Так, в норме основными липидными компонентами мембран эритроцитов являются ФЛ и СХ.

При МВ они замещаются нейтральными липидами и лизоформами, делая конструкцию мембран более жесткой и ломкой. Функции такой мембраны нарушаются. В частности, она хуже сохраняет трансмембранное распределение ионов.

Недостаточность энергообеспечения клеток при МВ способствует ослаблению антиоксидантных систем и накоплению перекисей липидов [6], являющихся ингибиторами тканевого дыхания. В результате в эритроцитах снижается содержание наиболее легко окисляемых фракций фосфолипидов и увеличивается уровень трудноокисляемых фракций.

Таким образом, у детей с МВ соотношение фракций липидов и фосфолипидов мембран эритроцитов нарушается в зависимости от степени тяжести заболевания и наличия осложнений. Выявленные нами изменения липидного состава биомембран указывают на формирование дисфосфолипидного синдрома, обуславливают нарушение проницаемости, осмотической резистентности, энергетики клеток организма и приводят к формированию специфических осложнений.

Преставленные нами материалы показывают перспективность дальнейшего изучения метаболических нарушений при МВ у детей для разработки обоснованной гиполлипидемической и мембраностабилизирующей терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Воронкова А.Ю. Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы. Методические рекомендации. М.: Медпрактика, 2005.
2. Капранов Н.И., Радионова А.М., Каширская Н.Ю., Толстова В.Д. Муковисцидоз: современные аспекты диагностики и лечения. Клиницист. 2006; 4: 42–51.
3. Kelly DA. Disease of the liver and biliary system in children. Oxford, Blackwell Science. Ltd., 1999.
4. Nquyen T, Louie SG, Beringer PM, Gill MA. Potential role of macrolide antibiotics in the management of cystic fibrosis lung disease. Curr. Opin. Pulm Med. 2002; 8 (6): 521–528.
5. Туркина Т.И., Семькин С.Ю., Капустина Т.Ю. и др. Метаболизм липидов у детей, больных муковисцидозом. Педиатрия. 2009; 2: 32–36.
6. Боброва Н.И. Генетический анализ показателей перекисного окисления липидов мембран эритроцитов при муковисцидозе: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Киев, 1991.
7. Hirshfeld D, Loyter A. Sphingomyelinase of chicken erythrocyte membranes. Archives of Biochem. and Biophys. 1975; 167: 186–192.
8. Дятловицкая Э.В. Роль гликофинголипидов в иммунологическом процессе. Укр. биохим. журнал. 1984; 56 (3): 263–267.
9. Симанова Т.В., Ожегов А.М. Клинико-генетические особенности поражения органов дыхания при муковисцидозе. Клиницист. 2008; 1: 28–31.

РЕФЕРАТЫ

ТЯЖЕЛЫЙ СТЕНОЗ УСТЬЯ ЛЕВОЙ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ У 12-ЛЕТНЕЙ ДЕВОЧКИ КАК ПЕРВОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ АРТЕРИИТА ТАКАЯСУ

Приведена история болезни 12-летней девочки с жалобами на боли в грудной клетке при физических усилиях в течение 2 месяцев. Ангиография показала выраженное сужение устья левой коронарной артерии и утолщение стенки восходящей аорты, что заставило предположить болезнь Такаясусу. Больная была

успешно излечена назначением кортикостероидов и операцией по шунтированию коронарной артерии.

Moortgat S, Tuerlinckx D, Bodart E, El Khoury G, Moniotte S. Acta Cardiol. 2009; 64(6): 825–829.