

На правах рукописи

ГРЕНЦ Вера Ивановна

**ХАРАКТЕРИСТИКИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ И ЛИМФОЦИТОВ У ЗДОРОВЫХ
ДЕТЕЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ С РАЗЛИЧНЫМ ИСХОДНЫМ
ВЕГЕТАТИВНЫМ ТОНУСОМ**

Специальность: 03.00.13 – физиология

14.00.09 – педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Тюмень 2004

Работа выполнена в государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Тюменский государственный университет»
и государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Тюменская государственная медицинская академия»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Чимаров Валерий Михайлович

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор

Сорогин Валентин Петрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Колпаков Виктор Васильевич

доктор медицинских наук,
профессор

Перевощикова Нина Константиновна

Ведущая организация:

Защита диссертации состоится «___» _____ 2004 г. в ___ часов на заседании диссертационного Совета Д.212.274.07 в Тюменском государственном университете. Адрес: 625003, г. Тюмень, ул. Пирогова, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки Тюменского государственного университета.

Автореферат разослан «___» _____ 2004 года.

Ученый секретарь
диссертационного Совета
доктор биологических наук,
профессор –

Е.А. Чирятьев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Необходимость глубокого изучения проблем обеспечения здоровья детей и подростков в связи с постоянным увеличением хронической патологии во всем мире, в том числе и в России, приобретает все большее значение (Перевощикова Н.К., 2003; Шарапова О.В., Царегородцев А.Д. и др., 2004; Lawlor G.I. e.a., 2000 и др.). По мнению Ю.Е. Вельтищева (2003), одним из приоритетных направлений в изучении индивидуального здоровья является углубление исследований в области геномики детского возраста. Изучение онтогенетических особенностей формирования уровня здоровья в критические периоды роста и развития ребенка (ускорение физического развития, перекресты в формуле белой крови, переключение метаболических путей и др.) является основой раннего выявления отклонений от генетической программы развития (Безруких М.М., 2004, Соловьев В.С., 2003). Исследования последних лет показали, что генетически детерминированная программа физиологической гибели клеток (апоптоз) в онтогенезе предопределяет пролиферацию, дифференцировку или пребывание этих клеток в покое (Ройт А. и др., 2000; Потапнев М.П., 2002; Караулов А.В., 2002; Шаповалов В.Д. и др., 2002; Заботина Т.Н. и др., 2003; Lawlor G.I. e.a., 2000; Fuller G.M., e.a., 2003). Особая роль в формировании хронической патологии у детей принадлежит отклонениям физиологического апоптоза циркулирующих клеток крови - нейтрофилов и лимфоцитов. Поэтому изучение механизмов формирования структуры и функции указанных клеток у детей в различные периоды онтогенеза и роли их преобразований в обеспечении уровня здоровья является актуальной задачей физиологии и педиатрии (Шалабодов А.Д., 1999; Маянский А.Н., 2003). Однако проблеме становления функции реактивности в онтогенезе у детей в указанном аспекте посвящены немногочисленные и противоречивые исследования (Прахин Е.И., 1997; Ботвиньева В.В. 1999; Мазуров Д.В. и др., 2002; Дамбаева С.В. и др., 2002; Lawlor G.I. e.a., 2000). Функционирование иммунной системы у детей в процессе их онтогенетического развития в

значительной мере определяется взаимодействиями с вегетативной нервной системой (ВНС) как ведущим центром регуляции гомеостаза, обеспечения адекватных приспособительных реакций организма, обуславливающих его жизнедеятельность (Щедрина А.Г. и др., 1989; Парцерняк С.А., 1999; Вейн А.М., 2000; Колпаков В.В., 2001; Беляева Л.М. и др., 2003). Однако закономерности онтогенетических структурно-функциональных преобразований нейтрофилов и лимфоцитов у здоровых детей во взаимосвязи с функционированием ВНС не исследованы, не изучено их значение для роста, развития детей, формирования здоровья, а также развития патологических состояний на разных этапах постнатального онтогенеза. Эти положения определили цель и задачи настоящего исследования

Цель работы – исследовать закономерности структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов у здоровых детей в зависимости от исходного вегетативного тонуса и определить роль выявленных взаимосвязей в формировании индивидуального здоровья в постнатальном онтогенезе.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Дать комплексную оценку состояния здоровья детей с различным типом функционирования ВНС в онтогенезе.

2. Изучить интрацеллюлярный обмен кальция в нейтрофилах и лимфоцитах на основе анализа показателей кинетики ионов кальция, интрацеллюлярного уровня общего кальция и активности Ca^{++} -АТФазы у здоровых детей в зависимости от исходного вегетативного тонуса (ИВТ) в анализируемые периоды онтогенеза.

3. Исследовать активность ферментов, регулирующих обмен реактивных кислородных радикалов в нейтрофилах и лимфоцитах у здоровых детей с различным ИВТ в онтогенезе.

4. Определить в мембранах нейтрофилов и лимфоцитов активность начальных этапов свободно-радикального окисления липидов, содержание

фосфолипидов и холестерина у здоровых детей в зависимости от показателей функционирования ВНС в исследуемые периоды онтогенеза.

5. Установить характер корреляционных взаимосвязей онтогенетических структурно-функциональных преобразований нейтрофилов и лимфоцитов и функциональной активности ВНС по показателям исходного вегетативного тонуса и определить значение указанных взаимосвязей в формировании здоровья и риска развития патологии у детей.

Научная новизна.

Впервые проведено комплексное сравнительное исследование структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов в зависимости от функциональной активности ВНС у здоровых детей на разных этапах постнатального онтогенеза – в периоды набора массы тела (3-4 года и 8-11 лет) и вытягивания (5-7 лет).

Впервые установлены особенности обмена интрацеллюлярного кальция, реактивных кислородных радикалов, структуры липидов нейтрофилов и лимфоцитов у здоровых детей 3-11 лет. При этом впервые показано, что исследуемые параметры структуры и функции, как нейтрофилов, так и лимфоцитов отличаются по величине и соотношению у детей с различным ИВТ: эйтонией, симпатикотонией и ваготонией.

В результате проведенных исследований в онтогенетическом аспекте впервые установлено, что структурно-функциональные преобразования нейтрофилов и лимфоцитов претерпевают возрастные изменения, имеющие специфические особенности у детей с эйтонической, симпатикотонической и ваготонической направленностью ИВТ. Установлено, что показатели онтогенетических преобразований нейтрофилов и лимфоцитов, тесно взаимосвязанные с функциональной активностью ВНС, отражают закономерности роста и развития детей, представляют новые критерии оценки уровня их здоровья и возможности прогнозирования развития патологических состояний.

Практическая значимость работы. Результаты настоящих исследований являются основой для разработки возрастных нормативов клинико-физиологического состояния детей в различные периоды онтогенеза. Выявленные показатели закономерностей онтогенетических преобразований структуры и функции нейтрофилов и лимфоцитов у детей с различным ИВТ позволили рекомендовать их в качестве новых объективных критериев диагностики здоровья и определения риска развития патологических состояний. Поскольку установлено, что при ИВТ эйтонии наблюдаются наиболее оптимальные соотношения уровня здоровья, структуры и функции нейтрофилов и лимфоцитов, данные показатели целесообразно расценивать и практически использовать в качестве нормативных параметров.

Положения, выносимые на защиту.

1. Характеристики структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов у здоровых детей в различные периоды онтогенеза в значительной мере предопределяются функциональным исходным состоянием ВНС – исходным вегетативным тонусом.

2. Показатели структурно-функциональных преобразований нейтрофилов и лимфоцитов отражают процессы дифференцировки указанных клеток в онтогенезе и представляют объективные критерии роста, развития и состояния здоровья детей.

3. Сравнительная характеристика показателей структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов в онтогенезе у здоровых детей с различным ИВТ (эйтонией, симпатикотонией, ваготонией) позволяет дифференцировать различный уровень формирования индивидуального здоровья и выделить факторы риска, способствующие развитию патологических состояний.

Апробация результатов исследования. Результаты настоящих исследований представлены на ежегодных международных симпозиумах «Медицина и охрана здоровья» (Тюмень 1999, 2000, 2003), первой

межрегиональной научно-практической конференции «Формирование здорового образа жизни населения Урала и Сибири» (Тюмень 2004), II международном конгрессе в Греции «Терапия, оздоровление, профилактика в условиях кризиса экологии организма» (Халкиди 2002).

Реализация результатов исследования. Результаты исследования используются в детской поликлинике № 2, дошкольном образовательном учреждении № 113, школах № 37, № 57 г. Тюмени, в учебном процессе на кафедре валеологии Тюменского государственного университета и его филиале в г. Пыть-Ях, на профильных кафедрах педиатрического факультета Тюменской государственной медицинской академии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на ... страницах машинописного текста, содержит введение, главу, посвященную обзору литературы, главу «Материалы и методы исследования», три главы, отражающие результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Иллюстрированатаблицами, рисунками. Список литературы состоит из источников, из них отечественных, иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Для решения поставленных в настоящей работе задач нами проведены наблюдения и биохимические исследования 156 детей в возрасте от 3 до 11 лет I группы здоровья с различным исходным вегетативным тонусом (ИВТ): эйтонией (60 детей), симпатикотонией (72 ребёнка), ваготонией (24 ребёнка). При этом в группе детей с эйтонией в возрасте 3-4 года наблюдалось 22 ребёнка, в 5-7 лет – 24 и в 8-11 лет – 22 ребенка. В группе детей с ИВТ симпатикотонией в возрасте 3-4 года было 34 ребёнка, в 5-7 лет – 16 и в 8-11 лет – 14 детей. В группе детей с ИВТ ваготонией в возрасте 3-4 года наблюдалось 2 ребенка, в 5-7 лет – 10 детей и в 8-11 лет – 12 детей. Все дети посещали дошкольные

учреждения или школы; большинство из них (86,7%) проживало в Западной Сибири с рождения. Биохимические исследования выполнены в биохимической лаборатории ЦНИЛа Тюменской медицинской академии (заведующая – старший научный сотрудник, к.б.н. Т.Д.Журавлева). Оценка полученных данных проводилась дифференцированно в зависимости от ИВТ – эйтонии, симпатикотонии, ваготонии. Для определения ИВТ использовались оценочные клинические таблицы Вейна А.М. (1981) в модификации Белоконь Н.А. (1987) и кардиоинтервалография (Баевский Р.М., 1979; Кубергер М.Г. и др., 1985). Принадлежность каждого ребенка к группе здоровья, лабораторные исследования осуществлялись в соответствии с приказами Минздрава РФ № 60 от 14.03.95 г., № 81 от 15.03.02 г. и приложением № 1, 2 к приказу № 621 от 30.12.2003. Физическое развитие определялось с помощью центильных таблиц (Мазурин А.В., Воронцов И.М., 1999) и показателей физического развития, разработанных для Тюменского региона (Чимаров В.М., Сорогин В.П., Кретинина Л.Н., 1995). Для оценки физического развития были использованы также массо-ростовые индексы: Кетле, тучности и мышечного развития (Ямпольская Ю.А., 1999).

Биохимические методы исследования. Для определения характеристик кинетики интрацеллюлярного кальция в нейтрофилах и лимфоцитах проведено: исследование кинетики ионов кальция путем регистрации его с флуоресцентным хлортетрациклиновым (ХТЦ) зондом в лейкоцитах в физиологических условиях (Добрецов Г.Е., 1989); определение уровня общего интрацеллюлярного кальция в мембранах нейтрофилов и лимфоцитов (Као Е.А., 1971, в модификации Журавлевой Т.Д. 1989); исследование Ca^{++} -АТФазной активности по методу А.М. Казеннова, 1984, в модификации Т.Д. Журавлевой (1988).

Исследование общего холестерина, общих фосфолипидов и начальных этапов свободнорадикального окисления липидов включало: определение уровня общего холестерина с использованием пластин «Silufol» (Чехия) по методу Златкиса-Зака; количественное определение фосфолипидов по

содержанию неорганического фосфора (Грибанов Г.А., 1976; Мельникова В.В., 1987); определение диеновых конъюгат полиненасыщенных жирных кислот (ДК ПНЖК) в мембранах нейтрофилов и лимфоцитов (Стальная И.Д. и др., 1977); определение гидроперекиси липидов (ГПЛ) спектрофотометрически (Писаревский Ю.А., 2000).

Особенности активности ферментов, регулирующих обмен реактивных оксигенных радикалов (РОР), выявлены: исследованием уровня перекиси водорода флуоресцентным методом (Тимошенко А.В. с сотр., 1998); исследованием активности ксантиноксидазы в плазме крови спектрофотометрически (Дьячина Н.И., 1973); определением активности супероксиддисмутазы (СОД) в мембранах нейтрофилов и лимфоцитов по методу Верболович В.Г., Подгорной А.М. (1987); определением активности каталазы по методу M. Karen, F. Toth et al. (1986).

Анализ полученных данных проводился с использованием статистического пакета «Statistica» на ПЭВМ Intel Inside Celeron. При создании базы данных использован редактор электронных таблиц программы «Microsoft-Excel 2000». Обработка результатов осуществлялась способом вариационной статистики по методу Фишера-Стьюдента. Наряду с этим, проведен многоплановый математический анализ парных корреляционных взаимосвязей изучаемых показателей с определением коэффициента корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 156 здоровых детей в возрасте от 3 до 11 лет. Все дети имели гармоничное физическое и соответствующее возрасту нервно-психическое развитие, удовлетворительную резистентность к заболеваниям, у всех отмечено отсутствие пороков развития и хронической патологии.

Исследование семейного анамнеза показало отсутствие наследственной отягощенности, при этом ИВТ эйтона чаще отмечен у детей, родители которых менее всего были подвержены соматической патологии.

Физическое развитие характеризовалось увеличением индекса Кетле I и снижением индекса мышечного развития детей по мере увеличения их возраста. У детей с ИВТ эйтонией и ваготонией индекс тучности заметно снижался в периоде вытягивания. Однако у ваготоников индексы Кетле I и II были наиболее низкими, а индекс мышечного развития - наиболее высоким. Эти данные свидетельствуют, что характерной особенностью детей с ИВТ ваготонией является преобладание массы тела над ростовыми показателями во все анализируемые периоды онтогенетического развития.

В качестве объективного критерия диагностики здоровья определялось количество нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови как показателей иммунологической защиты организма в зависимости от возраста и ИВТ. Выявлено, что количество нейтрофилов при всех типах ИВТ увеличивается в возрасте 5-7 лет и вновь снижается к 8-11 годам, но при этом в возрасте 3-4 года и 5-7 лет отмечается некоторое уменьшение количества клеток у детей с ваготонией. При этом в 3-4 года наблюдается достоверное уменьшение и числа лимфоцитов. При ваготонии количество лимфоцитов оказалось более высоким в возрасте 5-7 лет, в сравнении с периодами набора массы, не имея существенных различий у детей с разным типом функционирования ВНС.

Результаты проведенных исследований дают основание детям с ИВТ эйтонией выделить в особую эталонную группу здоровья и использовать их показатели в качестве контрольных.

Структурно-функциональная организация нейтрофилов у детей с ИВТ эйтонией характеризуется низким содержанием H_2O_2 в периоде вытягивания, сочетающимся, судя по кинетике зонда ХТЦ, с минимальным содержанием Ca^{++} в примембранном слое и низким уровнем интрацеллюлярного Ca^{++} при накоплении общего кальция (таблица 1). В структуре нейтрофилов в этот период отмечается накопление ГПЛ при снижении общих фосфолипидов (ОФЛ) и увеличении коэффициента ОХС/ОФЛ в 1,5-2 раза. Эти изменения, судя по данным литературы (Маянский А.Н., 2003), направлены на дифференцировку нейтрофилов.

Показатели структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов у детей с ИВТ эйтонией в изучаемые периоды онтогенеза

| Анализируемые показатели | Показатели детей с ИВТ эйтонией | | | | | |
|--|---------------------------------|-------------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------|----------------------|
| | Нейтрофилы | | | Лимфоциты | | |
| | 3-4 года | 5-7 лет | 8-11 лет | 3-4 года | 5-7 лет | 8-11 лет |
| Стартовая ФЛУ (J_0) усл. ед. ФЛУ | 265,6 $\pm 15,6^{*\wedge}$ | 205,4 $\pm 11,7$ | 208,8 $\pm 28,0$ | 227,2 $\pm 9,7^{*\wedge}$ | 200,1 $\pm 8,3$ | 202,3 $\pm 12,3$ |
| Пик ФЛУ (J_{\max}) усл. ед. ФЛУ | 276,2 $\pm 16,8^*$ | 236,5 $\pm 13,7^\#$ | 280,3 $\pm 29,0$ | 255,3 $\pm 7,9^{*\wedge}$ | 231,2 $\pm 11,4^\#$ | 298,7 $\pm 36,1$ |
| Время достижения пика ФЛУ (t_{\max}) (мин.) | 14,0 $\pm 3,6$ | 13,8 $\pm 1,9$ | 14,9 $\pm 3,2$ | 16,18 $\pm 3,05$ | 15,58 $\pm 2,05$ | 19,29 $\pm 2,63$ |
| Са общий мкмоль/мл | 0,011 $\pm 0,002^*$ | 0,044 $\pm 0,006^\#$ | 0,008 $\pm 0,001$ | 0,0197 $\pm 0,002^*$ | 0,036 $\pm 0,003^\#$ | 0,017 $\pm 0,001$ |
| Са ⁺⁺ -АТФаза мкмоль/час/мл | 0,57 $\pm 0,10$ | 0,62 $\pm 0,06$ | 0,52 $\pm 0,13$ | 0,609 $\pm 0,120$ | 0,689 $\pm 0,063$ | 0,495 $\pm 0,140$ |
| ОХС мкмоль/мл | 0,401 $\pm 0,025$ | 0,513 $\pm 0,080$ | 0,491 $\pm 0,047$ | 0,434 $\pm 0,010$ | 0,523 $\pm 0,073$ | 0,541 $\pm 0,040$ |
| ОФЛ мкмоль/мл | 0,136 $\pm 0,011^*$ | 0,092 $\pm 0,009^\#$ | 0,138 $\pm 0,018$ | 0,154 $\pm 0,020$ | 0,145 $\pm 0,024$ | 0,172 $\pm 0,010$ |
| Коэффициент ОХС/ОФЛ | 2,95 | 5,58 | 3,56 | 2,82 | 3,61 | 3,14 |
| ДК ПНЖК нмоль/мл | 25,95 $\pm 3,40$ | 29,16 $\pm 5,38$ | 21,57 $\pm 9,52$ | 28,42 $\pm 1,52$ | 28,34 $\pm 3,61$ | 25,06 $\pm 2,89$ |
| Гидроперекиси липидов усл. ед. | 0,110 $\pm 0,012$ | 0,156 $\pm 0,031$ | 0,134 $\pm 0,20$ | 0,105 $\pm 0,006$ | 0,149 $\pm 0,028$ | 0,124 $\pm 0,014$ |
| Коэффициент ДК ПНЖК/ГПЛ | 235,9 | 186,9 | 161,0 | 270,6 | 190,2 | 202,1 |
| H ₂ O ₂ нмоль/мл | 0,334 $\pm 0,020^{*\wedge}$ | 0,215 $\pm 0,023^\#$ | 1,126 $\pm 0,60$ | 0,298 $\pm 0,013^\wedge$ | 0,309 $\pm 0,015$ | 0,384 $\pm 0,010$ |
| Ксантинооксидаза (в сыворотке крови) нмоль/мл/мин. | 2,23 $\pm 0,11^*$ | 3,15 $\pm 0,17^\#$ | 2,65 $\pm 0,01$ | 2,23 $\pm 0,11$ | 3,15 $\pm 0,17$ | 2,65 $\pm 0,01$ |
| СОД (%торм.) | 24,94 $\pm 2,82^{*\wedge}$ | 40,54 $\pm 4,87$ | 46,89 $\pm 7,85$ | 34,24 $\pm 3,09$ | 37,32 $\pm 13,29$ | 36,57 $\pm 6,63$ |
| Каталаза мкмоль/мл/мин. | 6,61 $\pm 1,05$ | 14,71 $\pm 3,05$ | 13,26 $\pm 3,20$ | 13,34 $\pm 0,08$ | 10,51 $\pm 1,92$ | 8,09 $\pm 0,39$ |
| Коэффициент СОД/каталаза | 3,77 | 2,76 | 3,54 | 2,57 | 3,6 | 4,5 |

* – достоверность различий между группами детей 3-4 лет и 5-7 лет

– достоверность различий между группами детей 5-7 лет и 8-11 лет

^ – достоверность различий между группами детей 3-4 лет и 8-11 лет

В возрасте детей 3-4 лет в структуре нейтрофилов являются характерными высокая концентрация Ca^{++} в примембранном слое при снижении коэффициента ОХС/ОФЛ, низкая концентрация H_2O_2 в сочетании с уменьшением активности СОД и каталазы, что свидетельствует о низкой их функциональной активности и превалированием их пролиферации.

Для II периода набора массы у детей с ИВТ эйтонией, судя по кинетике зонда ХТЦ, характерно наибольшее увеличение максимальной и стартовой концентрации Ca^{++} и содержания H_2O_2 в нейтрофилах, что отражает процесс дифференцировки нейтрофилов. В лимфоцитах у детей-эйтоникиков 8-11 лет максимальный уровень H_2O_2 сочетался с низкой активностью каталазы ($P < 0,05$), а в возрасте 3-4 года низкий уровень H_2O_2 – с высокой активностью каталазы.

В лимфоцитах у детей с эйтонией в периоде вытягивания, судя по пику ФЛУ зонда ХТЦ, характерно, в сравнении с периодами набора массы, достоверное снижение интрацеллюлярного Ca^{++} при увеличении почти в два раза свободного кальция и тенденции к увеличению активности Ca^{++} -АТФазы. Во II периоде набора массы, в сравнении с группой детей 3-4 лет, выявлено снижение концентрации Ca^{++} в примембранном слое ($P < 0,01$) при одновременном увеличении его интрацеллюлярного уровня ($P < 0,001$). Эти показатели указывают на завершенность дифференцировки лимфоцитов в указанные возрастные периоды.

Анализ структурно-функциональной организации исследуемых клеток крови у детей с ИВТ симпатикотонией позволил выявить их связь с вегетативной конституцией и установить различия закономерностей их становления. Анализируя динамику содержания перекиси водорода в онтогенезе, нами установлены различия его уровня в нейтрофилах и лимфоцитах (рис. 1, 2). Функциональная активность нейтрофилов у детей с симпатикотонией, в отличие от показателей у эйтоникиков, в периоде вытягивания характеризовалась более высоким содержанием H_2O_2 , сопряженным с накоплением Ca^{++} в примембранном слое, снижением его

трансмембранного транспорта, общего интрацеллюлярного кальция и активности СОД. В периодах набора массы у детей этой группы, в сравнении с данными при эйтонии, на фоне идентичных величин H_2O_2 отмечено снижение Ca^{++} в примембранном слое и его внутриклеточного уровня. Эти изменения у детей 3-4 лет сочетались с увеличением Ca^{++} -АТФазы и каталазы, а в возрасте 8-11 лет – со снижением активности СОД и повышением уровня ОФЛ.

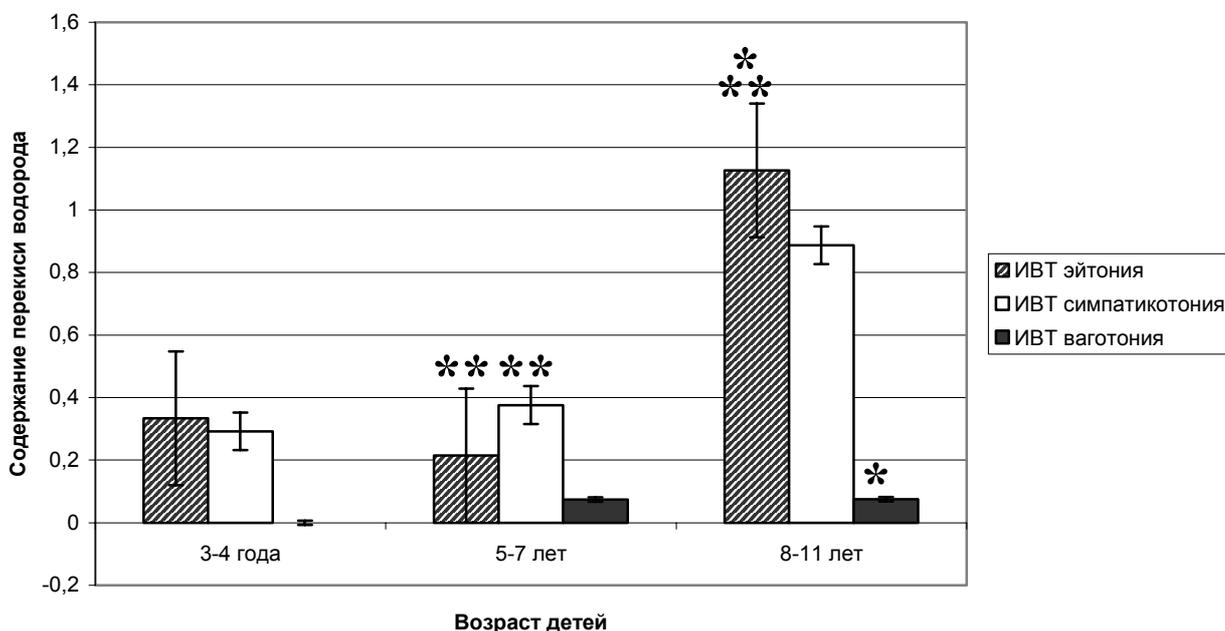


Рис. 1. Содержание перекиси водорода в нейтрофилах у здоровых детей в исследуемые периоды онтогенеза в зависимости от ИБТ (* – достоверность различий с симпатикотонией, ** – достоверность различий с ваготонией)

В лимфоцитах у наблюдаемых нами детей с ИБТ симпатикотонией, в сравнении с детьми эталонной группы здоровья, выявлены также существенные различия. Так, в I периоде набора массы, судя по кинетике зонда ХТЦ, в лимфоцитах выявлено снижение интрацеллюлярного Ca^{++} при увеличении скорости его трансмембранного транспорта ($P < 0,01$) (рис. 3-4). Подобное состояние может быть сопряжено со структурно-функциональным преобразованием биомембран.

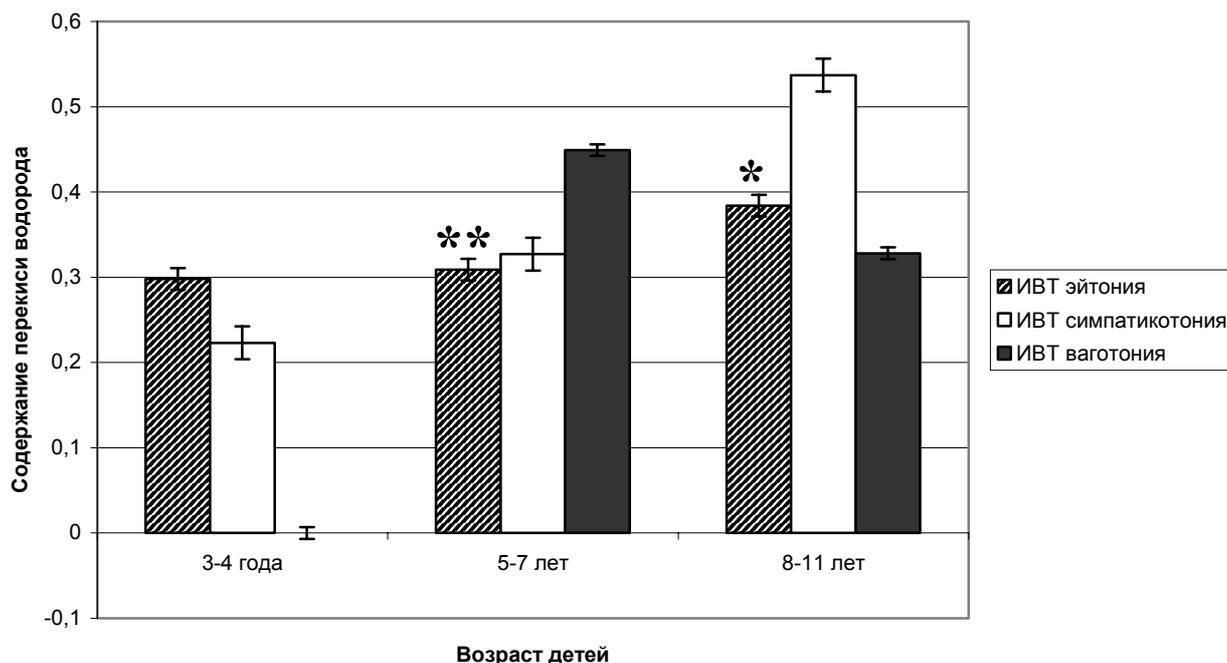
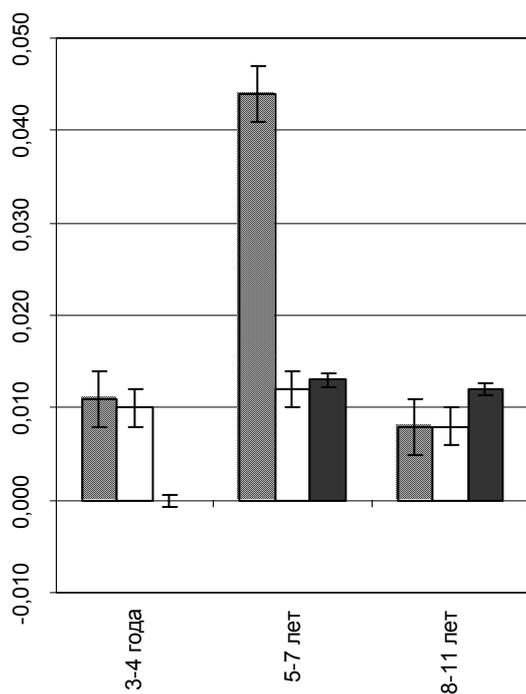


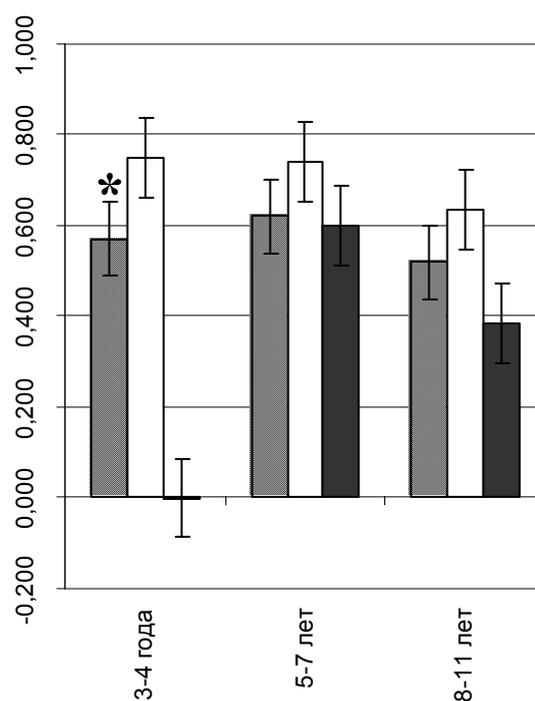
Рис. 2. Содержание перекиси водорода в лимфоцитах у здоровых детей в исследуемые периоды онтогенеза в зависимости от ИВТ (* – достоверность различий с симпатикотонией, ** – достоверность различий с ваготонией)

При этом уровень H_2O_2 у детей данной группы, идентичный показателям при эйтонии, позволяет расценивать структурно-функциональные преобразования в лимфоцитах как адаптивный процесс, сопряженный с состоянием ВНС. По данным корреляционных взаимосвязей, синтез лимфоцитами H_2O_2 обусловлен дефицитом холинэргических влияний: $\Delta X - r = + 0,537$, ОФЛ – $r = - 0,541$ и избытком адренэргических: ВПР – $r = - 0,536$ и ОФЛ – $r = - 0,591$, при которых продукция перекиси водорода предопределяется уровнем фосфолипидов ($r = + 0,496$). Следовательно, выявленный уровень H_2O_2 в лимфоцитах у детей с симпатикотонией в возрасте 3-4 года обеспечивается спецификой обмена Ca^{++} , низкой активностью СОД и каталазы и предопределяется, в первую очередь, дефицитом в мембранах ОХС при относительном увеличении ОФЛ. В периоде вытягивания, судя по кинетике зонда ХТЦ, для детей с симпатикотонией в лимфоцитах, в сравнении с контрольной группой, характерно увеличение примембранной концентрации Ca^{++} , его внутриклеточной концентрации при снижении скорости трансмембранного транспорта.

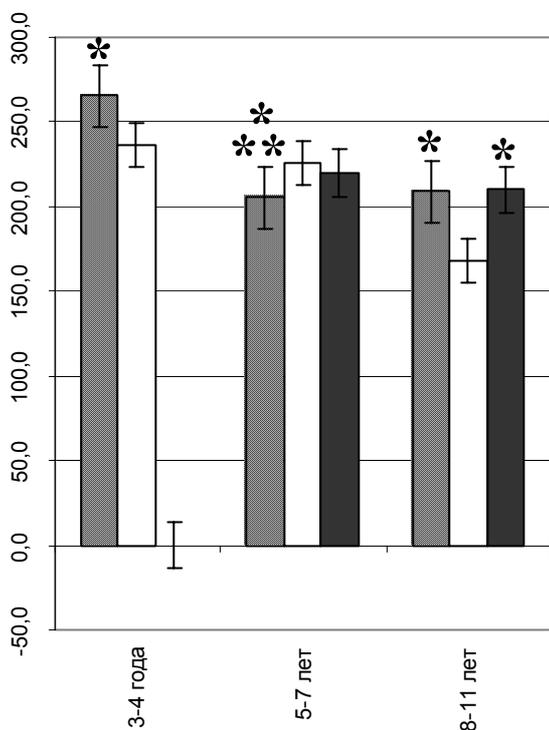
Ca общий мкмоль/мл



Ca⁺⁺-АТФаза мкмоль/час/мл



Стартовая ФЛУ (J₀) усл.ед. ФЛУ



Пик ФЛУ (J_{max}) усл.ед. ФЛУ

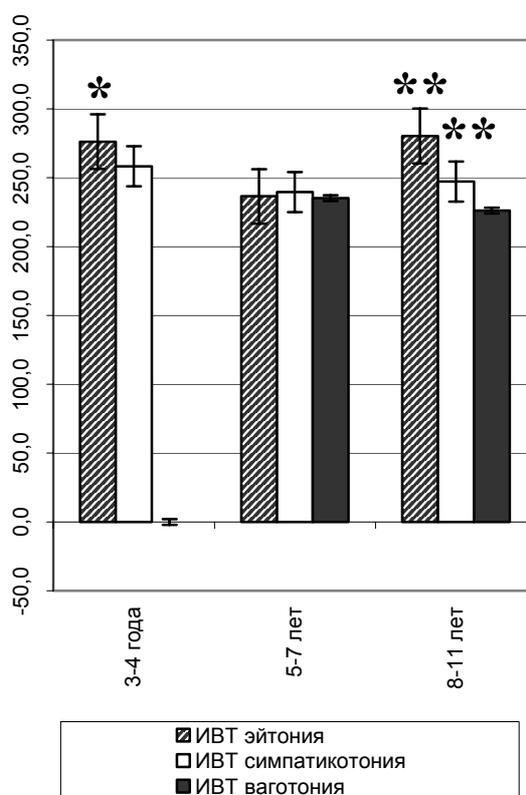


Рис. 3. Показатели кинетики кальция в нейтрофилах у здоровых детей в зависимости от ИВТ в онтогенезе

(* – достоверность различий с ИВТ-симпатикотонией, ** – достоверность различий с ИВТ-ваготонией)

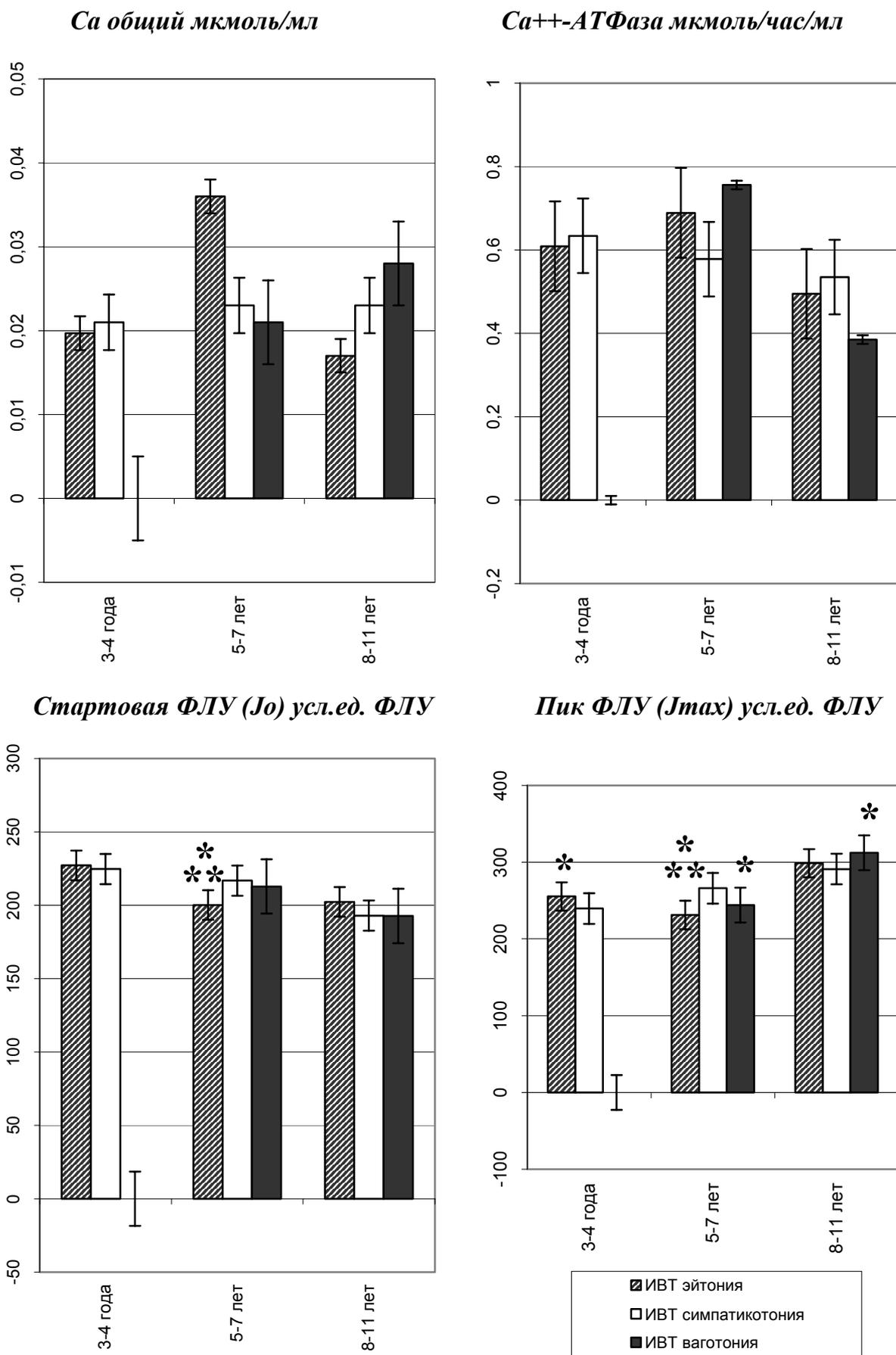


Рис. 4. Показатели кинетики кальция в лимфоцитах у здоровых детей в зависимости от ИВТ в онтогенезе (* – достоверность различий с ИВТ-симпатикотонией, ** – достоверность различий с ИВТ-ваготонией)

При этом стабильность уровня перекиси водорода обусловлена снижением уровня каталазы ($r=-0,838$). Уменьшение скорости трансмембранного транспорта кальция, судя по увеличению коэффициентов ОХС/ОФЛ, ДК ПНЖК/ГПЛ и СОД/каталазы, может быть сопряжено с увеличением ОФЛ, накоплением ДК ПНЖК и ингибированием СОД. Это подтверждается взаимосвязями между активностью симпатического отдела ВНС: АМо и СОД ($r = -0,735$), ИВР и ОФЛ ($r = +0,814$) и ИН₂-ОФЛ ($r = +0,898$). При этом уровень интрацеллюлярного кальция и скорость его транспорта определяется активностью Са⁺⁺-АТФазы ($r = + 0,822$ и $r = + 0,832$ соответственно). В структуре лимфоцитов у детей этой группы не выявлено достоверных изменений, а в системе ферментов, регулирующих РОР, активность СОД была высокой ($P<0,05$), что указывает на увеличение синтеза перекиси водорода. Эти изменения активности СОД могут быть сопряжены с повышением активности ксантинооксидазы в плазме крови, то есть, возможно, избыточным синтезом супероксида кислорода и его дисмутации с образованием Н₂О₂. Выявленные данные структурно-функциональных преобразований у детей с симпатикотонией указывают на более выраженную дифференцировку нейтрофилов в периоде вытягивания у детей с симпатикотонией.

При ваготонии в нейтрофилах у детей в периоде вытягивания, в сравнении с данными при эйтонии, на фоне низкого содержания Н₂О₂ ($P<0,05$) выявлено увеличение содержания Са⁺⁺ в примембранном слое при дефиците общего интрацеллюлярного кальция ($P<0,05$), а также увеличение активности СОД ($P<0,05$) и коэффициента СОД/каталаза. Подобное состояние может свидетельствовать о замедлении генетически запрограммированного апоптоза нейтрофилов. Это подтверждается отрицательной взаимосвязью между ΔХ и содержанием общего кальция в нейтрофилах ($r= - 0,667$), ИН с уровнем Н₂О₂ ($r= -0.60$) и положительной взаимосвязью ксантинооксидазы с СОД ($r= + 0.949$), что указывает на

ведущую роль парасимпатического отдела ВНС в формировании уровня интрацеллюлярного кальция и содержания H_2O_2 .

Во II периоде набора массы в нейтрофилах у детей с ваготонией, в сравнении с показателями при эйтонии, на фоне значительного снижения уровня H_2O_2 ($P < 0,01$), выявлено снижение содержания интрацеллюлярного Ca^{++} ($P < 0,01$) и накопление общего кальция. При этом снижение содержания ДК ПНЖК ($P < 0,05$) и ГПЛ ($P < 0,05$), а также активности СОД ($P < 0,001$) свидетельствует о задержке физиологического апоптоза, что подтверждает прямая взаимосвязь активности парасимпатического отдела ВНС (ΔX) с содержанием Ca^{++} ($r = +1.0$) и уровнем ДК ПНЖК ($r = -1.0$) при положительных взаимосвязях Ca^{++} и ДК ПНЖК ($r = +1.0$). Кроме того, накопление общего интрацеллюлярного кальция и его обратная взаимосвязь с ΔX ($r = -0.975$) и активностью ксантинооксидазы, также свидетельствует о задержке формирования физиологического апоптоза нейтрофилов у детей с ваготонией.

Структурно-функциональные преобразования лимфоцитов у здоровых детей с ваготонией, в сравнении с показателями при эйтонии, также имели определённые различия. Так, у ваготоников в периоде вытягивания выявлено достоверное повышение уровня H_2O_2 ($P < 0,05$) в сочетании с увеличением примембранного и интрацеллюлярного Ca^{++} ($P < 0,001$ и $P < 0,01$ соответственно) при оптимальных величинах общего интрацеллюлярного Ca и показателях его трансмембранного транспорта, судя по времени достижения пика и активности Ca^{++} -АТФазы. Эти изменения могут быть сопряжены с ускорением генетически запрограммированного апоптоза лимфоцитов, направленного на их дифференцировку, что подтверждается выявленным нами накоплением в мембранах лимфоцитов ОФЛ.

Во II периоде набора массы тела у детей с ваготонией, в сравнении с данными при эйтонии, в лимфоцитах на фоне оптимальных величин H_2O_2 , показателей кинетики Ca^{++} и ферментов, регулирующих обмен РОР, выявлено достоверное увеличение интрацеллюлярного свободного кальция

($P < 0,05$) при снижении ОФЛ и содержания ДК ПНЖК ($P < 0,01$) и ГПЛ ($P < 0,05$). Эти данные свидетельствуют об ускорении физиологического апоптоза. На это указывает и отрицательная взаимосвязь между АМо и свободным кальцием ($r = - 0.800$), ГПЛ ($r = - 1,000$), содержанием ОФЛ ($r = - 0.800$) и Ca^{++} ($r = - 1,000$).

Обобщая в целом результаты исследования, можно заключить, что выявленные закономерности структурно-функциональных преобразований нейтрофилов и лимфоцитов, детерминированные функциональной активностью ВНС индивида и в связи с этим имеющие специфические особенности у детей с различным ИВТ – эйтонией, симпатикотонией и ваготонией, претерпевающие выраженные возрастные изменения в постнатальном онтогенезе, отражают процессы роста и развития детей, становления иммунной системы и могут служить основой для определения уровня здоровья, выделения факторов риска формирования патологических состояний и направлений поиска путей их коррекции.

ВЫВОДЫ

1. Комплексная оценка здоровья детей 3-11 лет позволила выявить их онтогенетические особенности в зависимости от ИВТ. Дети с ИВТ эйтонией характеризуются наиболее благоприятным течением антенатального периода и состоянием здоровья в постнатальном онтогенезе, что дает основания для выделения их в особую (эталонную) группу.

2. Структурно-функциональные преобразования нейтрофилов и лимфоцитов циркулирующей крови у здоровых детей характеризуются онтогенетическими особенностями интрацеллюлярного обмена кальция, уровня перекиси водорода, сопряженными с изменениями активности ферментов антиоксидантной защиты, начальных этапов перекисления липидов, содержания холестерина и фосфолипидов, степень выраженности которых обусловлена исходным вегетативным тонусом. Выявленные константы онтогенетических преобразований нейтрофилов и лимфоцитов и их взаимосвязи с функциональной активностью ВНС представляют новые

объективные критерии оценки роста и развития детей, состояния и прогноза их здоровья, выявления факторов риска формирования патологии.

3. При эйтонии у здоровых детей в периоде вытягивания, в сравнении с периодами набора массы, в нейтрофилах и лимфоцитах наблюдается увеличение содержания общего интрацеллюлярного кальция и соотношения холестерин/фосфолипиды в сочетании со снижением уровня Ca^{++} и высокой активностью в плазме ксантиноксидазы. Это можно расценить как показатель активности их пролиферации в период физиологического перекреста. Максимальный уровень перекиси водорода и наиболее низкий – общего интрацеллюлярного кальция в нейтрофилах и лимфоцитах у детей с эйтонией в периоды набора массы тела можно рассматривать в качестве показателя их дифференцировки. Этот процесс наиболее выражен в нейтрофилах у детей 8-11 лет.

4. Структурно-функциональная организация нейтрофилов у здоровых детей с ИВТ симпатикотонией имеет ряд отличий от показателей при эйтонии. Для детей с симпатикотонией в периоде вытягивания в нейтрофилах характерны более низкие, чем у детей с эйтонией, показатели содержания общего интрацеллюлярного кальция, активности СОД, скорости трансмембранного транспорта Ca^{++} и высокий уровень перекиси водорода. К онтогенетическим особенностям преобразований нейтрофилов у детей с симпатикотонией следует отнести снижение уровня интрацеллюлярного содержания Ca^{++} в периоды набора массы, сопряженное с увеличением активности каталазы и Ca^{++} -АТФазы в возрасте 3-4 года, а в возрасте 8-11 лет – снижение активности СОД при увеличении содержания фосфолипидов. Приведенные данные указывают на более раннюю дифференцировку нейтрофилов у детей с симпатикотонией в онтогенезе. Структурно-функциональные преобразования лимфоцитов при симпатикотонии во все анализируемые периоды онтогенеза идентичны показателям детей с эйтонией.

5. Характеристики структурно-функциональных преобразований нейтрофилов у детей с преобладанием парасимпатического отдела ВНС характеризуются более низким, чем у детей с эйтонией, содержанием в периоде вытягивания общего интрацеллюлярного кальция и перекиси водорода при увеличении активности СОД. В периоде округления (8-11 лет) в нейтрофилах у детей этой группы, в сравнении с данными при эйтонии, отмечается более низкий уровень перекиси водорода, интрацеллюлярного Ca^{++} , ДК ПНЖК и активности СОД, что в сочетании с накоплением свободного кальция свидетельствует о замедлении их дифференцировки.

6. При ИВТ ваготонии у здоровых детей структурно-функциональные преобразования лимфоцитов, в сравнении с показателями при эйтонии, в периоде вытягивания характеризуются увеличением содержания интрацеллюлярного Ca^{++} , перекиси водорода и фосфолипидов. В периоде округления (8-11 лет) в лимфоцитах у детей этой группы отмечается более высокое содержание, чем у детей с эйтонией, содержания общего кальция в сочетании с низким уровнем общих фосфолипидов и ДК ПНЖК, что указывает на задержку их дифференцировки в онтогенезе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Показатели онтогенетических структурно-функциональных преобразований нейтрофилов и лимфоцитов в зависимости от ИВТ у детей 3-11 лет рекомендуются в качестве объективных дополнительных критериев определения уровня индивидуального здоровья.

2. В качестве основных показателей для прогнозирования формирования здоровья детей в онтогенезе рекомендуется определение в лимфоцитах и нейтрофилах уровня общего и ионизированного кальция, перекиси водорода, каталазы и СОД.

3. Характеристики структурно-функциональной организации нейтрофилов и лимфоцитов у детей с ИВТ эйтонией в анализируемые периоды онтогенеза могут быть использованы в качестве нормативных показателей эталонной группы здоровья.

4. Здоровые дети с ИВТ симпатикотонией, у которых в нейтрофилах выявлена интенсификация обмена кальция, перекиси водорода и активности СОД, следует относить к группе повышенного риска по развитию патологических состояний.

5. Детей с ИВТ ваготонией, у которых дифференцировка нейтрофилов и лимфоцитов остается незавершенной к 8-11 годам, рекомендуется относить к контингенту со сниженной адаптацией и угрожаемых по формированию хронической патологии.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. К регуляции обмена реактивных оксигенных радикалов у здоровых детей и у детей с дисфункцией синусового узла функционального генеза // Медицина и охрана здоровья: Материалы междунар. симпозиума (Научн. вестник ТМА. Тюмень, 1999, № 3-4. С. 193 (в соавт. с Лыкасовым А.Г., Сорогиным В.П., и др.))
2. К характеристике обмена свободнорадикальных ферментов и кальция в лимфоцитах у здоровых детей // Медицина и охрана здоровья: Материалы междунар. симпозиума (Научн. вестник ТМА. Тюмень, 2000., № 4, С. 57(в соавт. с Сорогиным В.П., Чимаровым В.М., Ашихминой Е.П., Налобиной Г.Н.))
3. К регуляции функции нейтрофилов в онтогенезе у детей.// Тюменский медицинский журнал. Тюмень, 2000, № 3-4, С. 47-48 (в соавт. с Сорогиным В.П., Ашихминой Е.П., Ефремовой И.В., Налобиной Г.Н.)
4. Влияние учебного процесса на морфофункциональные показатели здоровья детей младшего школьного возраста //Формирование ЗОЖ подрастающего поколения / Материалы научно-практ. конференции. Тюмень, 2001, С. 3-5 (в соавт. с Шаяхметовой Г.Г.)
5. Физическое развитие детей отдельных этнических групп Севера //Терапия, оздоровление, профилактика в условиях кризиса экологии организма /Докл. и тезисы II междунар. конгресса. Москва-Халкиди (Греция), 2002, С. 111 (в соавт. Чимаровым В.М., Прокопьевым Н.Я., Москвиной А.Ю.)
6. Формирование оксидантной-антиоксидантной системы в нейтрофилах у здоровых детей // Медицина и охрана здоровья: Материалы междунар.

симпозиума. Тюмень, 2002, С. 64 (в соавт. с Сорогиным В.П., Чимаровым В.М., Шараповым Л.П., Коршуновым С.Ф.)

7. Экологические условия проживания и сердечно-сосудистая система детей этнических групп севера // Терапия, оздоровление, профилактика в условиях кризиса экологии организма /Материалы II междунар. конгресса. Москва-Халкиди (Греция), 2002, С. 139 (в соавт. Чимаровым В.М., Прокопьевым Н.Я. и др.).

8. Особенности структурно-функциональной организации нейтрофилов и трансмембранного транспорта у детей в зависимости от функции ВНС в онтогенезе // Медицина и охрана здоровья: Материалы междунар. симпозиума. Тюмень, 2003, С. 87 (в соавт. с Сорогиным В.П., Чимаровым В.М. и др.).

9. Роль вегетативной конституции в формировании фагоцитирующей активности лимфоцитов у детей в онтогенезе. // Формирование ЗОЖ населения Урала и Сибири, проблемы, новые технологии, перспективы. (Сб. материалов I региональной науч.-практ. конф., Тюмень, 2004, С. 168-170 (в соавт. с Сорогиным В.П., Чимаровым В.М., Ефремовой И.В.)

СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

ВНС – вегетативная нервная система

ВР – вегетативная реактивность

ГПЛ – гидроперекиси липидов

ДК ПНЖК – диеновые конъюгаты полиненасыщенных жирных кислот

ИВТ – исходный вегетативный тонус

КИГ – кардиоинтервалография

ОХС – общий холестерин

ОФЛ – общие фосфолипиды

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РОР – реактивные кислородные радикалы

СРОЛ – свободно-радикальное окисление липидов

ФЛУ – флуоресценция

ХТЦ – хлортетрациклин