

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ НА ИОННО-ТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У ДЕТЕЙ СИБИРИ С ПЕРИНАТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦНС

Колодяжная Т.А., Зайцева О.И.

ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр “Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук”» «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» Красноярск, e-mail: imprn@imprn.ru

С целью обоснования научного подхода к профилактике психосоматической патологии у детей школьного возраста был проведен курс физических упражнений по методу Войта у детей раннего возраста с перинатальным поражением ЦНС в течение 30 дней. В динамике определялись клинические проявления (состояние неврологических синдромов) и физико-химические свойства мембран эритроцитов. Установлено, что проведенный курс реабилитационных мероприятий способствовал последовательному восстановлению функций периферической и центральной нервной системы ребенка. Позитивные изменения в клиническом течении заболевания были обусловлены значительным ростом кальций-связывающей способности эритроцитарных мембран и повышением уровня содержания структурированной воды. Корреляционным анализом выявлена активация ее функций, заключающаяся в нормализации водно-транспортного обмена и поступления в клетки растворенного в воде кислорода.

Ключевые слова: реабилитация по методу В. Войта, дети с перинатальным поражением ЦНС, эритроцитарные мембраны, ионно-транспортная функция, структурированная вода.

THE IMPACT OF EXERCISE ON IONTRANSPORT FUNCTION OF ERYTHROCYTE MEMBRANES IN CHILDREN OF SIBERIA WITH PERINATAL DEFEAT OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Kolodyazhnaya T.A., Zaitzeva O.I.

Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of medical problems of the North", Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Krasnoyarsk, e-mail: imprn@imprn.ru

To optimise rehabilitation measures, early age children with perinatal lesions of the Central nervous system (CNS) was a course of exercise at Voight for 30 days. The dynamics were analyzed clinical and laboratory parameters: the severity of neurological syndromes and physico-chemical properties of erythrocyte membranes. It is established that the course of rehabilitation was facilitated in children with perinatal CNS regress of neurological symptoms and stabilization of erythrocyte membranes (increased level of membrane-bound structured water and the speed of energy-dependent calcium transport out of the cell). These activities are appropriate in terms of prevention of risk of development of psychosomatic pathology in these children at school age.

Keywords: method V. Voight, children, perinatal defeat of the Central nervous system, erythrocyte membrane, iontransport function, structured water.

Проблема перинатальной патологии нервной системы в настоящее время является чрезвычайно актуальной и изучение ее не вызывает сомнений. Причиной внутриутробного поражения центральной нервной системы (ЦНС) ребенка является снижение обеспеченности кислородом нервных тканей в процессе вынашивания ребенка и при его рождении [6].

Состояние гипоксии является первичным звеном в дестабилизационно-деструктивных процессах, наблюдаемых в биомембранах, способствующих нарушению энергообеспеченности клетки, и как результат этого накопления ионов кальция в нейрональной клетке, что приводит к снижению внеклеточных ионов кальция и к нарушению функций в передаче нервных импульсов [1, 4]. У таких детей в ранние периоды

развития данная патология проявляется в виде нарушения двигательной функции. Лечение, проведенное на ранних этапах, способствует как полному (при легкой степени поражений), так и частичному восстановлению функций головного мозга (при более тяжелых формах поражения ЦНС). При этом в поздние периоды развития ребенка могут наблюдаться отдаленные последствия в виде сниженной адаптации к школе. У таких детей имеются трудности в обучении, так как они не способны сосредоточиться на изучаемом предмете (синдромом дефицита внимания), они гиперактивны. Кроме того, эти дети обладают низким иммунитетом [9, 10, 11]. На ранних стадиях развития ребенка при выраженных патологических проявлениях проводится медикаментозное лечение, но оно требует дальнейших реабилитационных мероприятий. Одним из таких действенных методов является Войта-терапия, основоположником которой является чешский врач Вацлав Войта. Эффективность применения данного метода была отмечена в различном возрасте, но наилучшие результаты достигались в период новорожденности и первых лет жизни, когда пластичность центральной нервной системы и ее способность изменяться в ответ на внешнее воздействие максимальна [6]. При применении данного метода отмечалось не только восстановление двигательных функций ребенка, но и его психоневрологического состояния. Следует отметить, что оценка результатов реабилитационных мероприятий по методу Войта производилась по состоянию неврологического статуса [6]. Клеточно-молекулярные изменения после проведения курса восстановительной терапии не были исследованы. Изучения восстановительных возможностей организма ребенка в рамках клетки, выход за которые отражается на психосоматическом здоровье ребенка, определяет социальную значимость данного исследования. Цель исследования: выявить клеточно-молекулярные изменения эритроцитарных мембран у детей с перинатальными нарушениями центральной нервной системы после проведения реабилитационных мероприятий по методу Войта.

Материал и методы

Обследовано 16 детей г. Красноярска в возрасте от 7 дней до 3-х лет жизни с верифицированным диагнозом – церебральная ишемия, до и после проведения восстановительного комплекса специально разработанных упражнений с одновременным воздействием на рефлекторные зоны (по методу Войта) в течение 30 дней. Анализировались следующие неврологические синдромы: мышечный тонус, коммуникабельность, голосовые реакции, безусловные рефлексы, цепные симметричные рефлексы, сенсомоторное поведение, черепно-мозговые нервы. Оценка неврологического статуса производилась по балльной системе (от 1 до 3-х). Одновременно с этим были исследованы физико-химические свойства эритроцитарных мембран (ЭМ) спектрофлуоресцентным методом. При этом применяли следующие зонды: пирен, 1-анилино-нафталин-8 сульфонат (АНС), 4-

диметиламинохалкона (ДМХ), хлортетрациклин гидрохлорид (ХТЦ). Данные измерения производились на спектрофлуориметре MPF-4 марки «Хитачи» (Япония). Определялись: степень собственной флуоресценции триптофановых групп белков (длина волны экстинкции 284 нм, эмиссии – 334 нм) [3]; кальций-связывающая способность (КСС) ЭМ с применением зонда хлортетрациклина гидрохлорид (ХТЦ) (длина волны экстинкции – 380 нм, эмиссии – 400 нм). Степень текучести жирнокислотных остатков углеводов мембранных фосфолипидов оценивалась по эксимеризации пирена в 2-х зонах его локализации общего липидного (длина волны экстинкции – 340 нм, эмиссии – 350 нм) и прибелкового (аннулярного) (длина волны экстинкции – 284 нм, эмиссии – 350 нм) [3]. С применением отрицательно заряженного зонда (АНС) была определена степень зарядового смещения общего поверхностного белок липидного слоя мембран (длина волны экстинкции – 360 нм, эмиссии – 400 нм) [3]. Определялась степень насыщенности ЭМ структурированной внутримембранной водой двух компонент свечения ДМХ-длинноволновой (542 нм) и коротковолновой (498 нм) при длине волны возбуждения 427 нм. по коэффициенту (1/фл. ДМХ) [3]. Степень дестабилизации эритроцитарных мембран оценивали по соотношению поляризации (P) и фоновой деполяризации мембраны (dP) (коэффициент оптической лабильности P/dP) по [12].

Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистического пакета прикладных программ BIOSTAT, ver. 6.0. (StatSoft Inc. США). Все полученные результаты проверялись на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Для количественных признаков использовался непараметрический U-критерий Манн – Уитни при сравнении двух несвязанных выборок. Изменения считаются статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Анализ зависимости признаков проводится с помощью расчета и оценки значимости непараметрического коэффициента корреляции по Спирмену. При значении $p < 0,05$ регрессионная модель адекватно описывает взаимосвязь признаков. Результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде медианы Me, (Min-max).

Результаты исследования

После проведения восстановительных упражнений по методу Войта у детей с перинатальным поражением ЦНС получены позитивные сдвиги, как в клиническом течении исследуемых неврологических синдромов, выражающихся в росте баллов в динамике наблюдения (рисунок), так и на клеточно-молекулярном уровне (таблица).

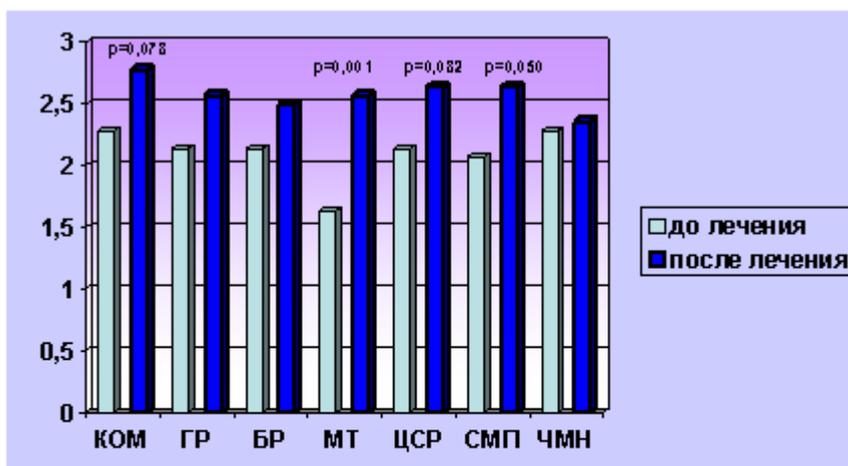


Рис.1. Неврологические синдромы у детей с перинатальным нарушением ЦНС до и после реабилитации по Войту

Ком. – коммуникабельность, ГР – голосовые реакции, БР – безусловные рефлексы, МТ – мышечный тонус, ЦСР – цепные симметричные рефлексы, СМП – сенсомоторное поведение, ЧМН – черепно-мозговые нервы.

На представленном рисунке отчетливо видно, что среди всех исследуемых неврологических показателей, оцененных в баллах, наиболее выражены позитивные изменения в показателе синдрома «мышечный тонус» ($p=0,0012$). Наряду с этим, было отмечено улучшение состояния неврологических синдромов: «сенсомоторное поведение» ($p=0,0505$), «коммуникабельность» ($p=0,0781$), «цепные симметричные рефлексы» ($p=0,0823$).

Физико-химические показатели эритроцитарных мембран до и после применения Войта-терапии у детей с перинатальным поражением ЦНС

Показатели физико-химических свойств	До воздействия Войта-терапии	После воздействия Войта-терапии
Триптофановые, группы белков, ед. фл.	23,4 (25,0-30,0)	24,0 (21,0-29,0) $p= 0, 7241$
Текучесть билипидного слоя мембран, (отн. ед.).	0,591 (0,513-0,735)	0,707 (0,627-0,758) $p= 0,101$
Текучесть аннулярного слоя белков (отн. ед.)	0,412 (0,394-0,481)	0,439 (0,417-0,507) $p= 0,2211$
Флуоресценция АНС, ед. фл.	30,0 (24,3-38,0)	30,0 (26,0-34,0)
Мембраносвязанная вода, (МСВ) отн. ед. (1/фл. ДМХ) (498 нм)	0,0244 (0,0227-0,0270)	0,0270 (0,0253-0,0294) $P=0,0534$
Мембраносвязанная вода, (МСВ) отн. ед. (1/фл. ДМХ) (542 нм)	0,0526 (0,0465-0,0588)	0,0571 (0,0513-0,0606) $p=0,1092$

Кальций-связывающая способность эр. м. (ККС) (отн. ед.)	2,00 (1,615-3,667)	3,33 (2,75-5,50) p= 0,0062
Показатель степени дестабилизации (P/df) (отн. ед.)	42,206 (34,865-44,108)	37,062 (31,030-44,572) p= 0,6186

Клеточно-молекулярные трансформации в исследуемых ЭМ, после проведения лечения, касались в основном только функциональных характеристик интегральных белков и не затрагивали их количественное содержание (таблица). Установлено значительное повышение показателя кальций-связывающей способности эритроцитарных мембран (ККС) (на 94,0 %) ($p=0,001$), что характеризует, скорость энергозависимого переноса кальция [2] и свидетельствует о нормализации калий натриевого обмена в мембранах эритроцитов. Обозначена явная тенденция к повышению количественного уровня внутримембранной гидрофобной компоненты структурированной воды (в области углеводов фосфолипидов (ФЛ) поверхностной зоны ЭМ) (498 нм.) ($p=0,0534$), и в меньшей степени – гидрофильной компоненты (542 нм.), молекулы которой локализуются в области фосфолипидных «головок» ($p=0,1092$) [3]. При этом показатель степени флуоресценции триптофанилов, отражающих количественное содержание интегральных транспортных белков в ЭМ [3], не изменялся. Также заметно, но не значимо после проведения курса Войта-терапии у детей в ЭМ была повышена степень текучести углеводородной зоны фосфолипидов (общего липидного бислоя ЭМ). На это указывало повышение коэффициента эксимеризации неполярного зонда пирена, диффундирующего в гидрофобном компартменте клеточной мембраны при длине волны возбуждающего света 340 нм. ($p=0,101$) (таблица). Тогда, как показатель степени текучести фосфолипидов аннулярного прибелкового слоя (коэффициент эксимеризации зонда пирена, при длине волны возбуждающего света 284 нм), оставался на том же уровне, что и до лечения (таблица). Все вышеперечисленные молекулярные изменения, выявленные после лечения у детей в ЭМ, указывали на активацию функций транспортных белков и начинающих восстановительных процессах в мембранах. Данный факт подтверждает после применения Войта-терапии, хотя и мало выраженное снижение показателя, характеризующего дестабилизационные процессы в биомембранах [12].

При анализе корреляционных взаимосвязей, установленных в исходный период наблюдения (до лечения), между различными физико-химическими характеристиками ЭМ, было выявлено, что значительное снижение скорости выхода кальция из эритроцитарной клетки во многом связано с понижением насыщенности мембран МСВ (таблица). Об этом свидетельствовала прямая корреляционная взаимосвязь между показателями ККС и гидрофильной компоненты (542 нм) МСВ ($r= 0, 5800$, $p=0,0235$). Следует подчеркнуть, что

после проведенного курса лечебных упражнений показатель КСС не имел взаимосвязей с насыщением мембран структурированной водой. По всей вероятности воздействие Войта-терапии способствовало изменению молекулярных взаимодействий МСВ в результате перестроении аквафер вокруг координирующих центров, которые могут быть фосфолипидами и белками [7, 8]. Кроме того, установлены после Войта-терапии прямые взаимосвязи гидрофильной (542 нм.) ($r=0,6101$, $p=0,016$) и гидрофобной компонент (498 нм) ($r= 0,5463$, $p=0,0351$) МСВ с показателем фл. АНС (зонд АНС отрицательно заряжен и связывается с положительно заряженными компонентами мембран). Данная взаимосвязь указывает на то, что МСВ после проведенного лечения изменилась функционально, став участником образования в поверхностной области ЭМ положительных зарядов. Это, по нашему мнению, может быть связано, как с ее участием в каналообразовании, так и неотъемлемой от этого функции в транспорте воды в эритроцитарные клетки и, следовательно, растворенного в ней кислорода [1, 4, 5].

Учитывая тот факт, что ЭМ отражают свойства всех биологических мембран в организме, мы полагаем, что изменения, выявленные в мембранах эритроцитов, в процессе динамических наблюдений были характерны как для мышечной, так и для нейрональной мембран. В этой связи становятся объяснимыми неоднозначные корреляционные взаимосвязи различных неврологических синдромов не только до и после лечения, но и имеющие неодинаковую зависимость от синдрома «мышечный тонус» и физико-химических свойств мембран.

Обнаруженный рост силы скоррелированности неврологического синдрома мышечный тонус в динамике наблюдения до и после воздействия физических упражнений с одновременной активацией рефлекторных зон с синдромами «безусловные рефлексы» (с $r=0,631$ до $r=0,895$), «цепные симметричные рефлексы» (с $r=0,631$ до $r=0,855$), «сенсомоторное поведение» (с $r=0,631$ до $r=0,962$) свидетельствовали о начинающихся процессах восстановления нарушенных нервно-рефлекторных связей.

Вместе с тем, наблюдались признаки восстановления функций высшей нервной деятельности мозга, на что указывала установленная после Войта-терапии взаимосвязь между позитивным изменением состояния синдрома «коммуникабельность», характеризующего связь ребенка с внешней средой, и количественным показателем уровня МСВ (498 нм) ($r= 0,5410$, $p=0,0457$) (количества водных каналов). При этом синдром «черепно-мозговые рефлексы» не имел зависимости от насыщенности мембран МСВ (количества водных каналов), тогда как установленная прямая взаимосвязь данного синдрома с показателем фл. АНС ($r= 0,680$, $p=0,007$) указывала на наличие такой зависимости, но уже от функциональной активности водообразующих каналов. Данная

гипотеза была сделана на основании вышерассмотренной прямой взаимосвязи МСВ 2-х местах ее локализации (гидрофильной и гидрофобной) и показателя фл. АНС. На этом основании мы вправе предположить, что восстановление и развитие функций высшей нервной деятельности связано с каналами, образованными структурированной водой. Наши исследования согласуются с последними открытиями в области квантовой физики. Было обнаружено, что в клетках дендритов и нейронов формируются микроскопические полые цилиндры из нитей белка тубулина, внутри заполненные структурированной водой. По сути, микротрубки в клетке дендритов и нейронов являются «световодом» для фотонов, и передают волны от клетки к клетке без потерь энергии и осуществляют связи как между собой в организме, так и внешней средой.

Заключение

Проведение курса реабилитационных мероприятий по Войту у детей раннего возраста с перинатальным поражением ЦНС способствовало последовательному восстановлению функций периферической и центральной нервной системы ребенка. Позитивные изменения в клиническом течении заболевания были обусловлены значительным ростом кальций-связывающей способности эритроцитарных мембран и повышением уровня содержания водных каналов и активацией их функций, заключающихся в нормализации транспорта воды в клетку и растворенного в ней кислорода. Это явилось не только пусковым моментом в восстановлении нервно-рефлекторных функций организма ребенка, его психофизиологического состояния, но и способствовало дальнейшему развитию в виде формирования новых связей.

Список литературы

1. Болдырев А.А. Биомембранология: учеб. Пособие [Текст] / А.А. Болдырев, Е.И. Кяйвярйнен, В.А. Илюха. — Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. — 226 с.
2. Владимиров Ю.А. Кальциевые насосы живой клетки [Текст] / Ю.А. Владимиров // Сорский образовательный журнал. — 1998.— № 3. — С. 20–27.
3. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов [Текст] / Г.Е. Добрецов. — М.: Наука, 1989. — 227 с.
4. Зинченко В.П., Долгачева Л.П. Электронная версия учебного пособия «Внутриклеточная сигнализация» / Эл изд. Аналитическая микроскопия / Под ред. проф. А.Ю. Буданцева. Адм. сервер <http://car.p.sn.ru>: Р.В. Гуркин. — 2003. — 84 с.
5. Иванов И.И., Локтюшкин А.В., Гуськова Р.А., Васильев Н.С., Федоров Г.Е., Рубин А.Б. // ДАН. — 2007. — Т. 414. — № 5.— С. 697–700.

6. Кобякова Г.Ф., Морозова Л.Х., Салахов И.Э., Новиков Ю.О. // Мануальная терапия. – 2016. – № 2. – С. 21–29.
7. Колодяжная Т.А. Адаптационно-приспособительные механизмы мембраносвязанной воды у детей на Севере [Текст] / Т.А. Колодяжная, О.И. Зайцева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 5-1. – С. 54–57.
8. Крыницкая А.Ю., Суханов П.П., Седельников Ю.Е. Влияние КВЧ-излучения низкой интенсивности на структурно-динамическое состояние модельных биомембран [электронный ресурс] // Журнал радиоэлектроники. – 2011.– № 4: сайт. – <http://jre.cplire.ru/jre/apr11/6/abstract.html> (дата обращения 19.04.2011).
9. Овчаренко Е.С. Физическое развитие младших школьников с детским церебральным параличом [Текст] / Е.С. Овчаренко, В.В. Фефелова, Т.П. Колоскова // Сибирский медицинский Журнал (Иркутск). – 2014.– Т. 126. – № 3. – С. 82–84.
10. Терещенко В.П. Влияние лазерного излучения на некоторые параметры структуры мембран эритроцитов у детей с перинатальными поражениями ЦНС [Текст] / В.П.Терещенко, Н.В. Яворская, Т.А. Колодяжная // Лазерная медицина. – 2005.– Т. 9. – № 2.– С. 24–26.
11. Эверт Л.С., Катусенко О.Г., Маслова М.Ю., Паничева Е.С., Зайцева О.И., Лыткин В.А., Боброва Е.И. // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск. – 2009. –Т. 91. – № 8. – С. 119–121.
12. Якубова Р.Р. Способ оценки дестабилизации мембран эритроцитов [Текст] / Р.Р. Якубова, А.В. Мурын // Лаб. Дело. – 1990. – № 5. – С. 26-29.