

УЧАСТИЕ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ ФАКТОРОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ЦЕФАЛГИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ШКОЛЬНИКОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ РИНОЛАРИНГОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Зайцева О.И.^{1,2}, Игнатова И.А.^{1,2}, Колодяжная Т.А.¹, Эверт Л.С.¹

¹ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск, e-mail: imprn@imprn.ru;

²ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, e-mail: office@krasnil.ru

Изучение состояния периферических звеньев серотонинергической и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем на уровне клеточных мембран и их участия в развитии цефалгического синдрома у школьников с хроническими риноларингологическими заболеваниями проведено на модели эритроцита и его мембраны. Метод спектрофлуориметрии применяли для изучения чувствительности мембран эритроцитов к биорегуляторам ноцицепции с использованием функциональных проб с серотонином и дексаметазоном *in vitro*, а также были определены физико-химические свойства (текучесть глубоких слоев и текучесть поверхностных структур мембран). Выявлены модифицированная чувствительность мембран к указанным биорегуляторам ноцицепции в сочетании с измененной текучестью поверхностных структур. Методом отношения шансов рассчитаны значимые мембранассоциированные факторы риска развития цефалгического синдрома у детей с хроническими риноларингологическими заболеваниями. Таковыми являются: сниженная чувствительность мембран к серотонину (в 4 раза увеличивает риск), определяемая по пиковому показателю флуоресценции с серотонином, и повышенная чувствительность мембран к дексаметазону (в 5 раз повышает риск), определяемая по пиковому и скоростному показателю флуоресценции с этим гормоном. Полученные результаты указывают на дисбаланс в периферическом звене серотонинергической и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем на уровне клеточных мембран. Генез отклонений такого характера связан с изменениями физико-химических свойств клеточных мембран, обуславливающими формирование типа мембраны с пониженной текучестью поверхностных структур и модифицированной активностью мембранных рецепторов.

Ключевые слова: школьники, риноларингологические заболевания, цефалгический синдром, эритроцит, мембрана, биорегуляторы

PARTICIPATION OF MEMBRANE-DEPENDENT FACTORS IN DEVELOPMENT OF CEPHALIC SYNDROME AMONG SCHOOLCHILDREN WITH CHRONIC RHINOLARINOLOGICAL PATHOLOGY

Zaitseva O.I.^{1,2}, Ignatova I.A.^{1,2}, Kolodyazhnaya T.A.¹, Evert L.S.¹

¹FRC KSC SB RAS, KSC SB RAS «Medical Scientific Research Institute of Northern Problems», Krasnoyarsk, e-mail: imprn@imprn.ru;

²FSBEE HE «Krasnoyarsk State Medical University» named after Prof. V.F. Voyno-Yasenezkiy, Krasnoyarsk, e-mail: office@krasnil.ru

The study of the status of peripheral units of the serotonergic and hypothalamic-pituitary-adrenal systems at the level of cell membranes and their participation in the development of cephalgic syndrome in schoolchildren with chronic rhinolaryngological diseases was carried out on a model of an erythrocyte and its membrane. The method of spectrofluorimetry was used to study the sensitivity of erythrocyte membranes to nociception bioregulators using functional tests with serotonin and dexamethasone *in vitro*, and the physicochemical properties (fluidity of deep layers and fluidity of surface membrane structures) were determined. Modified membrane sensitivity to the above nociception bioregulators in combination with altered fluidity of surface structures was revealed. Significant membrane-associated risk factors for the development of cephalgic syndrome in children with chronic rhinolaryngological diseases were calculated using the odds ratio method. These are: reduced membrane sensitivity to serotonin (4 times increased risk), determined by the peak fluorescence with serotonin, and increased membrane sensitivity to dexamethasone (5 times increased risk), determined by the peak and speed fluorescence with this hormone. The results indicate an imbalance in the peripheral link of the serotonergic and hypothalamic-pituitary-adrenal systems at the level of cell membranes. The genesis of deviations of this nature is associated with changes in the physicochemical properties of cell membranes, which determine the formation of a type of membrane with reduced fluidity of surface structures and modified activity of

membrane receptors.

Keywords: schoolchildren, rhinolaryngological diseases, cephalgicsyndrome, erythrocyte, membrane, bioregulators

Вопросы сохранения и укрепления здоровья подрастающего поколения в современной России привлекают пристальное внимание не только клиницистов, но и представителей фундаментальных направлений, находясь на стыке исследований в области клинической медицины и физиологии. Серьезную проблему для здравоохранения представляет категория часто болеющих детей, среди которых нередко регистрируется хроническая оториноларингологическая (ЛОР) патология. По данным М.Р. Богомильского и других авторов, распространенность хронических заболеваний ЛОР-органов среди детского контингента России составляет 181,9–465,0 на 1000 детского населения [1]. Многочисленной является эта группа среди детей школьного возраста. В учебный период дети испытывают серьезные психоэмоциональные нагрузки, которые для части учащихся являются стрессогенными факторами и ослабляют организм, способствуя учащению появления острых респираторных заболеваний и заболеваний ЛОР-органов [2, 3].

Одной из частых жалоб у школьников с хроническими риноларингологическими заболеваниями (хронический гайморит, фронтит, аденоидит, фарингит) является головная боль, обусловленная в первую очередь основным заболеванием (патологией ЛОР-органов) и имеющая вторичный характер. При этом в процесс поддержания цефалгического синдрома будут включаться типовые патофизиологические механизмы ноцицепции со свойственными им изменениями в общих нейромедиаторных системах (ноцицептивной и антиноцицептивной) [4].

В последние десятилетия активно изучается серотонинергическая система и ее роль в генезе болевого синдрома [5, 6]. Исследуются все компоненты, включая гуморальное периферическое звено. Считается, что существование хронического болевого синдрома влечет за собой слабость серотонинергической системы и характеризуется изменением содержания серотонина в гуморальном периферическом звене. Результаты исследований, представленные А.А. Шутовым и соавторами, убедительно демонстрируют наличие у пациентов с хроническим болевым синдромом независимо от причинного фактора снижение содержания серотонина в клетках крови (тромбоцитах) и в сыворотке крови [7]. Заслуживают внимания сообщения авторов о присутствии у пациентов с хроническим цефалгическим синдромом тревожно-депрессивных расстройств, что связывают с пониженным уровнем серотонина и повышенным содержанием катехоламинов и кортизола в крови [6, 8]. Эти результаты указывают на тесную взаимосвязь регуляторных систем (серотонинергической и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой) и дезинтеграцию в них

при данных коморбидных состояниях.

Вместе с тем ряд исследователей считают, что возникающий дисбаланс в нейромедиаторной серотонинергической системе и нейрогуморальной гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси затрагивает различные звенья этих структур, в том числе и мембранный аппарат клеток, содержащий рецепторы к различным биорегуляторам [6, 9]. Так, по мнению авторов, состояние периферического звена серотонинергической системы определяется не только количеством серотонина в крови, но и функциональным состоянием серотониновых рецепторов [9]. В литературе есть сообщения об измененной чувствительности рецепторов к серотонину, которая имеет место при различных патологических состояниях [10].

С позиций клинической мембранологии функциональная активность рецепторов во многом определяется физико-химическими свойствами самой мембраны, в первую очередь вязкостью ее поверхностных структур и текучестью глубоких слоев. Показатели текучести в значительной степени зависят от состояния структурных липидов, их способности обеспечивать асимметрию липидной компоненты мембраны и чутко реагируют на патологию [11, 12]. Эритроцитарная мембрана широко используется для подобного рода исследований и способна связывать серотонин (рецепторно) и дексаметазон (имеются участки связывания белковой природы нереперторного характера) [9, 12, 13].

Цель работы: изучить чувствительность мембранных структур клетки к биорегуляторам ноцицепции (серотонину и дексаметазону) на модели мембраны эритроцита для установления риска развития цефалгического синдрома у конкретного ребенка с хронической риноларингологической патологией.

Материал и методы исследования

В исследование включены 74 школьника в возрасте 10–16 лет, проживающих в г. Красноярске и в г. Абакане (Республика Хакасия): 56 учащихся с хроническими заболеваниями ЛОР-органов с головной болью и 18 детей без головной боли, имеющие в анамнезе заболевания ЛОР-органов (группа сравнения). Исследования проводились после заполнения информированного согласия. У школьников группы сравнения соматоневрологический статус соответствовал возрастной норме. Всем учащимся проведено комплексное оториноларингологическое и аудиологическое обследование. Диагнозы выставлены в соответствии с МКБ-10. Вторичный цефалгический синдром устанавливался неврологом на основании анамнеза, данных неврологического осмотра, электроэнцефалографии, ультразвукового исследования сосудов шеи и головы. Интенсивность головной боли оценивали в баллах при помощи шкалы визуальных аналогов боли (ВАШ). Для определения риска развития вторичного

цефалгического синдрома у ребенка с хронической патологией ЛОР-органов изучали чувствительность мембран эритроцитов к серотонину (СТ) и дексаметазону (ДЗ) при помощи спектрофлуориметрии с применением функциональных проб по запатентованному нами способу с некоторыми дополнениями [13]. Так, оценку чувствительности эритроцитарных мембран к серотонину проводили с использованием фармакологического препарата серотонин (SerotoninBiotin), ELISA (RE59121) V 2009_09 8/10 Гамбург (Германия). Предварительно готовили рабочий раствор (к 1 мл «SerotoninBiotin» добавляли 10 мл дистиллированной воды), а затем в количестве 20 мкл (соответствует возрастной норме) добавляли в пробу суспензии мембран эритроцитов. Последующие этапы работы осуществляли способом, изложенным в патенте. Все измерения производили на спектрофлуориметре CaryEclipse, серийный номер EL 99113601, производства США. Анализировали следующие данные: пиковые показатели флуоресценции с серотонином (ФЛ пик. СТ) и с дексаметазоном (ФЛ пик. ДЗ), выраженные в условных единицах (усл. ед.), и показатели скорости включения флуоресценции (V включ.) с биорегуляторами, выраженные в условных единицах в минуту (усл.ед./мин.). Спектрофлуориметрией по Ю.А. Владимирову и соавторами изучали наиболее значимые физико-химические характеристики эритроцитарных мембран: текучесть глубоких слоев и микровязкость поверхностных структур [12]. Результаты представляли в относительных единицах (отн. ед.). Вычисляли показатели: текучесть поверхностных слоев мембран – 1/ показатель микровязкости поверхностных структур и коэффициент асимметрии текучести (КАТ) – показатель текучести поверхностных слоев мембран / показатель текучести глубоких слоев мембран.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ STATISTICA, ver. 6.0. Количественные показатели представлены в виде медианы (Me) и 25% – 75% интервала. Анализ зависимости признаков проводился с помощью непараметрического коэффициента корреляции по Спирмену. Риск развития вторичного цефалгического синдрома осуществляли при помощи показателя отношения шансов с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ).

Результаты исследования и их обсуждение

Цефалгический синдром среди обследованных нами детей с хронической патологией ЛОР-органов регистрировался в 75% случаев (56 детей). Интенсивность головной боли по шкале ВАШ в стадии обострения заболевания составила 3,0–6,0 балла (боль слабой и умеренной интенсивности). В неврологическом статусе выявлялась рассеянная микросимптоматика: горизонтальный нистагм 9,0% (5 случаев), покачивание в позе Ромберга в 23,2% (13 человек), лабильность вегетативной нервной системы (регионарный гипергидроз ладоней и стоп, красный дермографизм) в 55,4% случаев (31 человек).

У детей с вторичным цефалгическим синдромом были проанализированы данные анамнеза и выделены критериально значимые анамнестические факторы риска. Наиболее весомыми оказываются так называемые стресс-факторы (трудности в отношениях с одноклассниками, учителями, неадекватное отношение родителей к процессу обучения), увеличивающие риск развития цефалгического синдрома в 4 раза (показатель отношения шансов 4,22; 95%-ный ДИ 1,35–13,05). Наличие у одного из родителей хронической патологии ЛОР-органов (хронического синусита) также в 4 раза повышает риск развития цефалгического синдрома (показатель отношения шансов 4,33; 95%-ный ДИ 1,35–13,88). В случае перинатального поражения центральной нервной системы риск развития синдрома головной боли возрастает в 3,7 раза (показатель отношения шансов 3,75; 95%-ный ДИ 1,35–13,88).

Далее мы проанализировали показатели чувствительности эритроцитарных мембран к серотонину и дексаметазону у школьников с цефалгическим синдромом с патологией ЛОР-органов в сопоставлении с детьми из группы сравнения, результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели чувствительности мембран эритроцитов при функциональных пробах с серотонином и дексаметазоном у детей с вторичным цефалгическим синдромом с патологией ЛОР-органов (в условных единицах)

Показатели флуоресценции с биорегуляторами		Дети с цефалгическим синдромом n=56 [1]	Группа сравнения n=18 [2]	Статистическая значимость (P) по M-W
ФЛ пик. СТ(усл. ед)	Me	26,65	30,00	P1-2=0,0341
	25% – 75%	23,15–32,45	27,60–33,20	
V включ. СТ(усл. ед./мин)	Me	0,39	0,74	P1-2=0,2452
	25% – 75%	0,17–1,56	0,43–0,94	
ФЛ пик. ДЗ (усл. ед.)	Me	42,80	36,10	P1-2=0,0021
	25% – 75%	36,65–46,65	30,80–38,30	
V включ. ДЗ (усл. ед./мин.)	Me	0,58	0,41	P1-2=0,0010
	25% – 75%	0,41–0,73	0,32–0,54	

У детей с вторичным цефалгическим синдромом в соотношении с детьми из группы сравнения регистрируются статистически значимые различия: снижение чувствительности

эритроцитарных мембран к серотонину по пиковому показателю флуоресценции ($P=0,0341$) и повышение чувствительности эритроцитарных мембран к дексаметазону по пиковому ($P=0,0021$) и скоростному ($P=0,0010$) показателям флуоресценции. Полученные результаты указывают на дисбаланс в периферическом звене на уровне клеточных мембран серотонинергической и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем, регулирующих ноцицепцию.

Принимая во внимание, что функциональная активность мембранного аппарата клеток во многом определяется физико-химическими свойствами мембраны (текучестью ее поверхностных и глубоких слоев), мы сочли целесообразным рассмотреть эти показатели в эритроцитарных мембранах у детей с цефалгическим синдромом с заболеваниями ЛОР-органов в сопоставлении с аналогичными показателями детей из группы сравнения. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Физико-химические показатели мембран эритроцитов у детей с вторичным цефалгическим синдромом с патологией ЛОР-органов (в относительных единицах)

Показатели		Дети с цефалгическим синдромом n=56 [1]	Группа сравнения n=18 [2]	Статистическая значимость (P) по M-W
Текучесть поверхностных слоев мембраны	Me	3,12	3,80	P1-2=0,0027
	25% ₀ – 75% ₀	2,85–3,57	3,57–4,34	
Текучесть глубоких слоев мембраны	Me	0,35	0,35	P1-2=1,0000
	25% ₀ – 75% ₀	0,29–0,41	0,28–0,39	
КАТ	Me	9,52	11,90	P1-2=0,0558
	25% ₀ – 75% ₀	7,39–11,58	9,15–12,78	

У детей с цефалгическим синдромом в сопоставлении с группой сравнения выявляется статистически значимое снижение показателя текучести поверхностных слоев мембраны ($P=0,0027$), что негативно, по всей видимости, отражается на функционировании рецепторных единиц, находящихся преимущественно в поверхностных слоях. Изменения параметров показателя текучести поверхностных структур отражаются на уровне КАТ. Выявлена выраженная тенденция к снижению уровня КАТ ($P=0,0558$), что формирует у этих детей тип мембран со слабо выраженной асимметрией текучести поверхностных и глубоких слоев, с модифицированной функциональной активностью мембранных рецепторов.

Функциональная активность мембранассоциированных рецепторов зависит от

биофизического состояния мембраны в целом. Подтверждением тому служат выявленные корреляционные связи между показателями чувствительности мембран к биорегуляторам ноцицепции и показателями биофизического состояния мембран: уровень текучести поверхностных слоев мембран у детей с цефалгическим синдромом положительно коррелирует с пиковым показателем флуоресценции с серотонином ($R=0,31$, $P=0,0232$, для $N=56$); а также обнаружена отрицательная корреляционная взаимосвязь между текучестью глубоких слоев мембран и скоростью включения флуоресценции с дексаметазоном ($R=-0,38$, $P=0,0049$, для $N=56$).

Следующим этапом были рассчитаны значимые биофизические факторы риска возникновения вторичного цефалгического синдрома у детей с риноларингологической патологией. Таковыми явились низкий пиковый показатель флуоресценции с серотонином (СТ пик. $<27,6$ усл. ед.), в 4 раза увеличивающий риск возникновения цефалгического синдрома (показатель отношения шансов 4,36; 95%-ный ДИ 1,06–10,43), и высокие показатели флуоресценции с дексаметазоном, в 5 раз повышающие этот риск: пиковый (ДЗ пик. $>38,8$ усл. ед.; показатель отношения шансов 5,35; 95%-ный ДИ 1,86–15,36) и скоростной (V вкл. ДЗ $>0,54$ усл. ед./мин.; показатель отношения шансов 4,75; 95%-ный ДИ 1,25–12,54). Следовательно, при отклонении значения одного из этих показателей ниже или выше указанных величин регистрируется высокий риск развития вторичного цефалгического синдрома у детей с ЛОР-патологией.

Заключение

Таким образом, у детей с вторичным цефалгическим синдромом выявлены модификации в периферическом звене серотонинергической и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем на уровне клеточных мембран, проявляющиеся измененной чувствительностью мембран к ключевым биорегуляторам ноцицепции. Генез отклонений такого рода кроется в изменениях физико-химических свойств клеточных мембран, обуславливающих формирование типа мембран с пониженной текучестью поверхностных структур и модифицированной активностью мембранных рецепторов.

Список литературы

1. Богомильский М.Р. Детская оториноларингология в России — реалии, проблемы и перспективы // Вестник оториноларингологии. 2006. № 1. С. 4-7.
2. Левина А.С., Бабаченко И.В., Вожик А.А., Кветная А.С. Персистирующие инфекции у детей с хроническими заболеваниями ЛОР-органов: возможности этиотропной терапии // Вестник оториноларингологии. 2015. № 5. С. 46-50.

3. Акарачкова Е.С., Вершинина С.В., Котова О.В., Рябоконь И.В. Основы терапии и профилактики стресса и его последствий у детей и подростков // Вопросы современной педиатрии. 2013. № 3. С. 38-44.
4. Данилов А.Б., Данилов А.Б. Управление болью. Биопсихосоциальный подход. М.: АММ ПРЕСС, 2012. 568 с.
5. Atasever M., Namlı K.M., Sönmez C., Seval M.M., Yüce T., Sahin A.S., Koç A., Genc H. Lower serotonin level and higher rate of fibromyalgia syndrome with advancing pregnancy. J. Matern. Fetal.Neonatal.Med. 2017. vol. 30. no. 18. P. 2204-2211.
6. Ткачева Е.С., Медведева Л.А., Чурюканов М.В. Сравнительная оценка уровня серотонина и катехоламинов в сыворотке крови у пациентов с хронической головной болью напряжения и тревожно-депрессивным расстройством // Российский журнал боли. 2016. № 3-4. С. 16-20.
7. Шутов А.А., Каракулова Ю.В., Батуева Е.А. Место серотонинергической системы в патогенезе болевых хронических синдромов // Пермский медицинский журнал. 2011. № 6. С. 5-10.
8. Касьянов Е.Д., Мазо Г.Э. Функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси при депрессии: актуальное состояние проблемы // Журнал Психическое здоровье. 2017. № 8. С. 27-34.
9. Шур В.Ю., Самотруева М.А., Мажитова М.В., Тризно Н.Н., Файзиев Р.М., Петренко Л.В., Шур Ю.В. Серотонин: биологические свойства и перспективы клинического применения // Фундаментальные исследования. 2014. № 7. С. 621-629.
10. Симоненков А.П., Клюжев В.М. Синдром серотониновой недостаточности. М.: Изд-во Бином, 2013. 96 с.
11. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. Корякина Л.Б., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. № 3. С. 334-354.
12. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флюоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Медицина, 1980. 320 с.
13. Зайцева О.И., Терещенко В.П., Прахин Е.И. Способ определения типов клеточной реактивности у детей // Патент РФ №2231792. Патентообладатель Научно-исследовательский институт медицинских проблем севера СО РАМН. 2004. Бюл. № 18.