

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ПРИ ВЕТРЯНОЙ ОСПЕ

Ю.С. Тихонова, Г.В. Булыгин, Т.Ю. Кузьмина, Е.П. Тихонова
Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск

Metabolic processes in lymphocytes of patients with varicella zoster infections

Yu.S. Tichonova, G.V. Bulygin, T.Yu. Kuzmina, E.P. Tichonova
Krasnoyarsk State Medical University named by V.F. Voino-Yasentsky

Резюме. Оценка характера и интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах больных ветряной оспой по изменениям активности внутриклеточных ферментов показала, что в разгар заболевания отмечена интенсификация реакций гликолиза при значительном повышении функциональной нагрузки на клетки, происходит значительное снижение интенсивности реакций начального этапа ЦТК, что должно уменьшать энергетическую эффективность цикла, а также интенсивное поступление метаболитов на снабжение ЦТК субстратами с аминокислотного обмена, обеспечивая повышенный транспорт аминокислот в лимфоциты. Применение препаратов янтарной кислоты или ее солей дает дополнительное субстратное насыщение ЦТК, повышая энергоэффективность цикла и функциональные возможности лимфоцитов.

Ключевые слова: ветряная оспа, лимфоциты, метаболические процессы, активность внутриклеточных ферментов, субстрат.

Введение

Развитие, течение и исход инфекционно-воспалительного заболевания зависит от состояния иммунной системы, её ответа на внедрившийся микроорганизм. В результате развития этого ответа происходит распознавание возбудителя, его инактивация и элиминация из организма. В первую очередь, с патогеном контактируют иммунокомпетентные клетки, функциональное состояние которых и обуславливает адекватность иммунного ответа; наиболее важная роль среди них принадлежит лимфоцитам. Проявление в полном объеме функциональных возможностей лимфоцитов в процессах формирования адекватного иммунного ответа, в том числе и противовирусного, определяется внутриклеточным метаболизмом, который обеспечивается соответствующим уровнем активности ферментов в клетках [1]. В отечественной литературе имеется ряд источников, посвященных результатам изучения метаболических процессов в лимфоцитах при некоторых вирусных инфек-

Abstract. Measurement of metabolic processes in lymphocytes in Varicella zoster infection showed highly increased intercellular glycolysis activity with functional cellular overload. Same time, we discovered decreased level of intensity of first stages of TCC, that rules to lower cycle energetic efficiency and intense metabolites aminoacides intake for TCC, guiding to high aminoacides transport to lymphocytes. Usage of succinic acid and its salts gives more substrates for TCC, increasing its energetic efficiency and lymphocytes functional activity.

Key words: varicella zoster infection, lymphocytes, metabolic processes, functional cellular overload, substrat.

циях [1 – 3]. Однако при ветряной оспе подобные исследования не проводились; нет информации по этому вопросу и в доступной зарубежной литературе.

Цель исследования — оценка характера и интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах больных ветряной оспой по изменениям активности внутриклеточных ферментов в динамике заболевания.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели определялась активность внутриклеточных ферментов лимфоцитов 31 больного в возрасте 19–40 лет с диагнозом «Ветряная оспа, типичная, среднетяжелое течение», который устанавливался в условиях специализированного стационара. Из всех пациентов 19 человек обследованы в разгар заболевания (при поступлении в стационар), а 12 больных — в период реконвалесценции перед выпиской. В качестве контрольных показателей использовались

значения активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов 37 практически здоровых лиц сопоставимого возраста, полученные нами ранее [1].

У всех больных в лимфоцитах, выделенных из венозной крови на градиенте плотности фиколлаверографина [4], биолюминесцентным методом с использованием бактериальной люциферазы [5] проводилось определение активности внутриклеточных ферментов. Определялись следующие ферментные показатели: активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДФГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДФМДГ), а также глутатионредуктазы (ГР). Активность ферментов выражалась в мкЕ на 10 000 лимфоцитов.

Полученные в результате исследований данные были обработаны методами статистического анализа, используемыми в биологии и медицине с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0. В таблицах представлены среднегрупповые показатели (М) и ошибка средней (m). В связи с тем, что распределение показателей активности внутриклеточных ферментов отличалось от нормального, оценка достоверности различий проводилась с помощью U-критерия Манна – Уитни [6].

Результаты и обсуждение

Определявшаяся в исследовании активность ферментов, катализирующих процессы внутриклеточного обмена, свидетельствовала о значительных отличиях внутриклеточных метаболических реакций лимфоцитов больных в разгаре заболевания от соответствующих параметров практически здоровых лиц контрольной группы (табл.). При этом обращало на себя внимание то, что достоверно изменялись активности всех исследованных ферментов, а изменения были разнонаправленными.

Активность Г6ФДГ – фермента, подающего на пентозофосфатный путь (ПФП) субстрат и конкурирующий за него с гликолизом, в лимфоцитах больных определялась достоверно менее высокой, чем в контроле (1,93±0,24 и 2,74±0,31 соответственно; P<0,05).

Два фермента – ЛДГ, отражающий интенсивность обменных процессов гликолиза, а также ГЗФДГ, катализирующий ассоциированную с циклом реакцию, которая подает на него субстраты с липидного обмена – проявляли более высокую, по сравнению с контрольной группой, активность. Так, активность ГЗФДГ определялась равной 58,58±7,11 и достоверно (P<0,001) превышала значение контроля – 0,84±0,16. Подобным образом

и показатель ЛДГ был выше у больных по сравнению со здоровыми (1,44±0,20 и 0,84±0,08 соответственно; P<0,01).

Таблица

Активность ферментов гликолиза, ЦТК и ассоциированных с ним реакций в лимфоцитах (мкЕ/10000 клеток) пациентов с ветряной оспой в динамике заболевания (М±m)

Ферменты	Контрольная группа (n = 37)	Больные ветряной оспой	
		При поступлении (n = 19)	При выписке (n = 12)
Г6ФДГ	2,74±0,31	1,93±0,24 P1<0,05	3,47±0,51 P2<0,05
ГЗФДГ	0,84±0,16	58,58±7,11 P1<0,001	43,53±5,65 P1<0,001
ЛДГ	0,84±0,08	1,44±0,20 P1<0,01	1,03±0,12
НАДИЦДГ	1,95±0,25	0,47±0,01 P1<0,001	0,36±0,05 P1<0,001 P2<0,001
НАДФИЦДГ	31,02±2,18	0,07±0,01 P1<0,001	0,20±0,03 P1<0,001 P2<0,001
НАДГДГ	0,34±0,06	73,81±7,10 P1<0,001	55,40±7,06 P1<0,001
НАДФГДГ	0,11±0,02	1,10±0,16 P1<0,001	0,60±0,08 P1<0,001
НАДМДГ	21,62±1,67	85,94±12,03 P1<0,001	66,18±6,03 P1<0,001
НАДФМДГ	0,33±0,07	1,83±0,26 P1<0,001	1,24±0,15 P1<0,001
ГР	1,28±0,30	2,17±0,11 P1<0,001	1,56±0,22 P1<0,01 P2<0,05

P₁; P₂ – достоверность различий с показателем соответствующего столбца таблицы.

Ферменты начального этапа цикла трикарбонных кислот (ЦТК) – НАД- и НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназы – определялись в десятки раз менее активными, чем в лимфоцитах контрольной группы: показатель НАДИЦДГ равнялся 0,47±0,01 (в контроле – 1,95±0,25; P<0,001), а НАДФИЦДГ – 0,07±0,01 (контрольный уровень – 31,02±2,18; P<0,001).

Следующие ферменты ЦТК, обеспечивающие снабжение его субстратами с аминокислотного обмена, – НАДГДГ и НАДФГДГ – были значительно более активны, чем в контроле. Так, показатель НАДГДГ определялся более чем в 20 раз выше контрольного (73,81±7,10 и 0,34±0,06 соответственно; P<0,001), а НАДФГДГ в 10 раз превышала уровень контроля (1,10±0,16 и 0,11±0,02 соответственно; P<0,001).

Подобным образом и показатели активности дегидрогеназ завершающего этапа ЦТК (НАД- и НАДФ-малатдегидрогеназа) с высокой степенью достоверности превышали соответствующие значения контрольной группы. НАДМДГ у больных определялась равной $85,94 \pm 12,03$ (в контроле — $21,62 \pm 1,67$; $P < 0,001$), а показатель активности у них НАДФМДГ равнялся $1,83 \pm 0,26$ (в группе контроля — $0,33 \pm 0,07$; $P < 0,001$).

Фермент глутатионредуктаза, к наиболее важным функциям которого относят осуществление активного переноса в клетки аминокислот и участие в глутатионовой антиоксидантной защите [2], у больных также был более активен, чем в лимфоцитах здоровых из группы контроля — $2,17 \pm 0,11$ по сравнению с $1,28 \pm 0,30$ ($P < 0,001$).

Обследование больных в период реконвалесценции позволило установить, что у них практически все enzymатические показатели лимфоцитов сохранялись на уровне, отличающемся от контрольных значений (см. табл.). Активность ферментов ГЗФДГ, НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДМДГ, НАДФМДГ и ГР несколько снизилась по сравнению с показателями разгара заболевания, однако оставалась выше, чем в контрольной группе (как уменьшилась и активность ЛДГ, уровень которой становился недостоверно отличим от контроля). Достоверно выше, чем при разгаре заболевания, определялась активность Г6ФДГ и НАДФИЦДГ, а показатель НАДИЦДГ снижался по сравнению с контрольным значением еще больше, чем в группе больных, обследованных в разгаре заболевания. Полученные результаты позволили сделать заключение о том, что улучшение клинической картины, наблюдаемое в период реконвалесценции, не сопровождается восстановлением функциональных возможностей лимфоцитов и, вероятно, иммунной системы в целом, что необходимо учитывать при оценке состояния пациентов и определения тактики лечения.

По совокупности метаболических процессов, происходящих в лимфоцитах больных ветряной оспой в разгар заболевания, можно следующим образом характеризовать функциональные возможности клеток в этот период заболевания.

Во-первых, необходимо отметить интенсификацию в лимфоцитах реакций гликолиза, выработка энергии в котором активизируется при «аварийных» состояниях, то есть при значительном повышении функциональной нагрузки на клетки. Конкуренция за субстрат гликолиза и пентозофосфатного пути (ПФП) в данном случае приводит к обеднению последнего, что подтверждается сниженной по сравнению с контролем активностью его ключевого фермента Г6ФДГ, катализирующего начальную реакцию ПФП, которая определяет количество поступающего на него субстрата.

Следствием этого может являться ограничение функциональных возможностей лимфоцитов, обусловленное уменьшением количества восстановленного НАДФ, который вырабатывается в реакции, контролируемой данным ферментом, и используется затем клетками в процессах синтеза таких важнейших факторов иммунного ответа, как иммуноглобулины и цитокины. Кроме того, так как снижение активности ключевого фермента ПФП предполагает уменьшение в последнем объеме субстратного пула, это, вероятно, способно ограничивать и интенсивность реакций, связанных с синтезом нуклеиновых кислот, обеспечивающих возможность лимфоцитов к пролиферации «базового» элемента иммунного ответа.

Второе, что обращает на себя внимание, — это значительное снижение интенсивности реакций начального этапа ЦТК, что должно уменьшать энергетическую эффективность цикла. Показатели активности ферментов отражают сниженное количество субстрата, передающегося на реакцию, катализируемую ферментом НАДИЦДГ, с заключительного этапа цикла или поступающего в него от АцКоА. В еще большей степени уменьшено дополнительное субстратное обеспечение ЦТК из цитозоля, осуществляющееся под контролем НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы.

Третье обстоятельство, которое следует учитывать при обсуждении механизмов, обеспечивающих функционирование лимфоцитов больных в период разгара заболевания ветряной оспой, также касается работы ЦТК и сопряженных с дыханием систем окислительного фосфорилирования. Этот цикл является основным источником энергопродукции лимфоцитов, по своей продуктивности превышающий возможности гликолиза в несколько раз. Поэтому при состояниях функционального напряжения, сопровождающего формирование иммунного ответа на возбудителя инфекции, адаптивно-приспособительные механизмы клеток направлены на то, чтобы в первую очередь максимально поддерживать именно работу систем окислительного фосфорилирования по выработке АТФ. У больных в разгаре заболевания определяется способ дополнительного (компенсаторного) снабжения ЦТК субстратами, который заключается в очень интенсивном поступлении на него метаболитов с аминокислотного обмена и подтверждается весьма значительным повышением активности двух ферментов, осуществляющих перенос этих метаболитов, — НАДГДГ и НАДФГДГ. В работе данного механизма находит свое объяснение и активация фермента ГР, который обеспечивает повышенный транспорт аминокислот в лимфоциты. Результаты работы механизма дополнительного субстратного обеспечения ЦТК для повышения продукции энергетических эквивалентов находят

свое отражение в том, что реакции заключительного этапа этого цикла становятся более интенсивными, что и подтверждается увеличением в несколько раз активности соответствующих ферментов НАДМДГ и НАДФМДГ.

Механизм повышения эффективности ЦТК за счет усиленного использования в нем субстратов аминокислотного обмена, вероятно, нельзя считать оптимальным, так как при его работе нерационально используются метаболиты, предназначенные не для энергопродукции в иммунокомпетентных клетках, а для обеспечения в ней синтетических и пластических процессов, необходимых для реализации иммунного ответа. Поэтому, учитывая наличие достаточно частых осложнений при острых вирусных заболеваниях, в том числе и при ветряной оспе, представленные результаты исследования можно, по нашему мнению, расценить как теоретическое обоснование возможности применения метаболической иммунокоррекции с целью создания оптимальных условий функционирования лимфоцитов и обеспечения полноценного иммунного ответа, предупреждения осложнений заболевания. Следует учитывать и то, что адаптивные изменения реакций внутриклеточного обмена лимфоцитов сохранялись и в период реконвалесценции, являясь дополнительным фактором риска возникновения осложнений заболевания вследствие возможных нарушений работы иммунной системы, которая длительно функционирует с повышенной нагрузкой.

Средствами, применяемыми с этой целью, могут быть, например, препараты, содержащие янтарную кислоту или ее соли: реамберин, мексидол, цитофлавин. Являясь метаболитом ЦТК, янтарная кислота способна непосредственно включаться в цикл на этапе, следующем за реакциями, связывающими его с аминокислотным обменом. В результате этого происходит дополнительное субстратное насыщение ЦТК, повышается энергоэффективность цикла, обеспечивающая более высокие функциональные возможности лимфоцитов, но в то же время отсутствует необходимость поступления на ЦТК метаболитов с обмена аминокислот, которые могут быть использованы клетками более рационально.

Литература

1. Булыгин, Г.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа / Г.В. Булыгин, Н.И. Камзалакова, А.В. Андрейчиков. — Новосибирск: СО РАМН, 1999. — 346 с.
2. Бышевский, А.Ш. Биохимия для врача/ А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. — М., 1998. — 384 с.
3. Тихонова, Е.П. Метаболические основы иммунореактивности при парентеральных гепатитах В и С / Е.П. Тихонова, Г.В. Булыгин. — Новосибирск: Наука, 2003. — 148 с.
4. Boyum, A. Separation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes / A. Boyum // Tissue Antigens. — 1974. — V. 4. — P. 250 — 260.
5. Савченко, А.А. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биолюминесцентным методом / А.А. Савченко, Л.Н. Сунцова // Лабораторное дело. — 1989. — № 11. — С. 23 — 25.
6. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. — М.: Медиасфера, 2002. — 312 с.

Авторский коллектив:

Тихонова Юлия Сергеевна — ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; тел. +7-962-067-12-66; e-mail: tihonova-1981@mail.ru;

Булыгин Геннадий Викторович — профессор кафедры иммунологии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, д.м.н.; тел. +7-902-929-34-68; e-mail: gen-vikt@mail.ru;

Кузьмина Татьяна Юрьевна — доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, к.м.н.; тел. (391)246-93-75; e-mail: tkuzmina_24@mail.ru;

Тихонова Елена Петровна — заведующая кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом последипломного образования Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, д.м.н., профессор; тел. +7-908-014-33-43; e-mail: tihonovaep@mail.ru.