

## Особенности метаболических процессов в лимфоцитах при острых респираторных вирусных инфекциях

И.В. Сергеева, Е.П. Тихонова, Н.И. Камзалакова, Г.В. Булыгин

Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, кафедра инфекционных болезней и эпидемии с курсом ПО, кафедра клинической иммунологии, Россия

## Features of metabolic processes in lymphocytes at sharp respiratory virus infections

I.V. Sergeeva, E.P. Tihonova, N.I. Kamzalakova, G.V. Bulygin

Krasnoyarsk state medical university of a name of professor V.F.Vojno-Jasenetsky, Krasnoyarsk, Russia

### Аннотация

Особенности метаболических процессов в лимфоцитах больных острыми респираторными вирусными инфекциями с различной степенью тяжести определялась по изменениям активности внутриклеточных ферментов и показала, что в разгар заболевания отмечена разнонаправленность интенсификации реакций пентозофосфатного цикла (ПФП) и гликолиза, а также при значительном повышении функциональной нагрузки на клетки, происходит значительное снижение интенсивности реакций начального этапа цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), что должно уменьшать энергетическую эффективность цикла, а интенсивное поступление метаболитов на снабжение ЦТК субстратами с аминокислотного обмена, будет обеспечивать повышенный транспорт аминокислот в лимфоциты.

### Ключевые слова

Острые респираторные вирусные инфекции, больные, лимфоциты, метаболические процессы, активность внутриклеточных ферментов.

Удельный вес гриппа и острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) среди всех инфекционных болезней в России составляет 90%. [5,7,8]. Не исключение это и для Красноярского края, где доля ОРВИ в общей структуре инфекционной заболеваемости составила в 2011 году 92%.

Развитие, а также тяжесть любого инфекционного заболевания, его исход зависит от состояния иммунной системы, её ответа на вне-

### Summary

Features of metabolic processes in lymphocytes sick by sharp respiratory virus infections with various severity level it was defined on changes of activity of endocellular enzymes also has shown that at the height of disease it is noted distinction of an intensifications of reactions pentozophosfatis a cycle (ПФП) and glycolysis isn'ted, and also at substantial increase of functional loading on cages, there is a considerable decrease in intensity of reactions of the initial stage of a cycle of Krebsa a that should reduce power efficiency of a cycle, and intensive receipt of metabolites by supply of Krebsa by substrata with amino acids an exchange, will provide the raised transport of amino acids in lymphocytes.

### Key words

The Sharp respiratory virus infections sick, lymphocytes, metabolic processes, activity of endocellular enzymes.

дрившийся микроорганизм, в результате развития этого ответа происходит распознавание возбудителя, его инактивация и элиминация из организма. В патогенезе и клиническом течении ОРВИ также существенную роль играют нарушения иммунологического механизма защиты организма человека. По мнению ряда авторов, изменения, происходящие в иммунной системе при ОРВИ, расцениваются как адаптационная реакция организма на воздействие ви-

русов [1,2,3,6]. 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 [4,6].

Целью исследований явилась оценка характера и интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах больных ОРВИ по изменениям активности внутриклеточных ферментов в зависимости от тяжести течения болезни.

### Материалы и методы

Для достижения поставленной цели определялись энзиматические показатели лимфоцитов 52 больных в возрасте от 18 до 42 лет, с диагнозом «ОРВИ», который устанавливался в условиях специализированного стационара. Определение активности ферментов производилось в лимфоцитах, выделенных из периферической крови больных ОРВИ в течение первых суток после поступления на стационарное лечение. Обследованные больные были распределены на 2 группы: перенесшие ОРВИ среднетяжелым течением и с тяжелым течением заболевания. В качестве контрольных показателей использовались значения активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов 37 практически здоровых лиц сопоставимого возраста, полученные нами ранее.

У всех больных в лимфоцитах, выделенных из венозной крови на градиенте плотности фиколл-верографина, биолюминесцентным методом с использованием бактериальной люциферазы проводилось определение активности внутриклеточных ферментов. Определялись следующие энзиматические показатели: активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), 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 10000 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.

### Результаты и обсуждение

Определявшиеся в исследовании энзиматические показатели свидетельствовали о значительных отличиях внутриклеточных метаболических реакций лимфоцитов больных в разгаре заболевания от соответствующих параметров практически здоровых лиц контрольной группы (табл. 1).

Так при среднетяжелом течении ОРВИ в лимфоцитах больных определялись достоверные, при сравнении с уровнем контроля, отличия активности всех изученных ферментов; однако изменения энзиматических показателей были разнонаправленными. Два фермента, ассоциированных с гликолизом (Г6ФДГ и Г3ФДГ) у больных ОРВИ были достоверно более активными, чем в контроле: активность Г6ФДГ была равна соответственно  $3,23 \pm 0,62$  и  $2,74 \pm 0,31$  ( $p < 0,05$ ), а Г3ФДГ –  $51,58 \pm 5,92$  и  $0,84 \pm 0,16$  ( $p < 0,001$ ). В то же время, еще один фермент этого цикла – ЛДГ – у больных определялся менее активным, чем у обследованных контрольной группы:  $0,49 \pm 0,08$  и  $0,84 \pm 0,08$  соответственно;  $p < 0,001$ .

Для ферментов ЦТК и ассоциированных с ним реакций также отмечались разнонаправленные по отношению к уровню контроля изменения. Показатели в лимфоцитах НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, катализирующие реакции начального этапа цикла, у больных были ниже, чем в контроле: первый у больных равен  $0,13 \pm 0,02$  при значении у больных равном  $1,95 \pm 0,25$  ( $p < 0,001$ ), а для второго эти значения составили соответственно  $0,04 \pm 0,01$  и  $31,02 \pm 2,20$  ( $p < 0,001$ ). Следующие два фермента, связывающие между собой метаболизм аминокислотного обмена и ЦТК – НАДГДГ и НАДФГДГ – были достоверно более активными у больных со среднетяжелым течением ОРВИ. Показатели НАДГДГ у больных и здоровых составили соответственно  $58,91 \pm 5,49$  и  $0,34 \pm 0,06$

**Таблица 1. Активность ферментов в лимфоцитах (мкЕ/10000 кл.) больных с разными вариантами течения ОРВИ (M±m)**

Ферменты	Контроль	ОРВИ средней	Тяжелое течение
	n=37	тяжести n=31	ОРВИ n=21
	1	2	3
Г6ФДГ	2,74±0,31	3,23±0,62 P <sub>1</sub> <0,05	2,75±0,35
Г3ФДГ	0,84±0,16	51,58±5,92 P <sub>1</sub> <0,001	113,38±14,30 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
ЛДГ	0,84±0,08	0,49±0,08 P <sub>1</sub> <0,001	1,23±0,19 P <sub>2</sub> <0,001
НАДИЦДГ	1,95±0,25	0,13±0,02 P <sub>1</sub> <0,001	0,45±0,08 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
НАДФИЦДГ	31,02±2,20	0,04±0,01 P <sub>1</sub> <0,001	0,30±0,05 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
НАДГДГ	0,34±0,06	58,91±5,49 P <sub>1</sub> <0,001	121,42±16,53 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
НАДФГДГ	0,11±0,02	1,23±0,18 P <sub>1</sub> <0,001	7,51±0,87 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
НАДМДГ	21,62±1,69	84,16±13,70 P <sub>1</sub> <0,001	111,20±8,79 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
НАДФМДГ	0,33±0,07	1,19±0,15 P <sub>1</sub> <0,001	3,72±0,42 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
ГР	1,28±0,30	5,00±0,25 P <sub>1</sub> <0,001	7,87±0,57 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001

Применение P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> для обозначения статистической значимости

(p<0,001), а фермента НАДФГДГ – 1,23±0,18 и 0,11±0,02 (p<0,001).

Метаболические реакции заключительного этапа ЦТК, катализируемые НАД- и НАДФ-малатдегидрогеназой, также определялись на более высоком уровне в лимфоцитах больных. Активность НАДМДГ у них была равна 84,16±13,70 (в контрольной группе – 84,16±13,70; p<0,001), а НАДФМДГ – 1,19±0,15 (в контроле – 0,33±0,07; p<0,001).

Как и для большинства изученных ферментов, для ГР отмечена более высокая активность в группе больных со среднетяжелой формой ОРВИ: у них она определялась на уровне 5,00±0,25 при величине показателя

здоровых равным 1,28±0,30 (p<0,001). При тяжелом течении ОРВИ с последующими осложнениями в лимфоцитах больных определялись во многом подобные, по сравнению с контрольным уровнем, изменения метаболических реакций (табл.1). Как и в предыдущей группе обследованных, выше, чем в контроле, были активность ферментов Г3ФДГ (p<0,001), НАДГДГ (p<0,001), НАДФГДГ (p<0,001), НАДМДГ (p<0,001), НАДФМДГ (p<0,001) и ГР (p<0,001); а ниже контрольного уровня – НАДИЦДГ (p<0,001) и НАДФИЦДГ (p<0,001). В отличие от среднетяжелого течения заболевания, в лимфоцитах больных этой группе не было обнаружено до-

стоверных по сравнению с контролем изменений активности Г6ФДГ и ЛДГ.

Наиболее общим обстоятельством, обращающим на себя внимание при анализе энзиматических показателей лимфоцитов больных этой группы, является то, что активность почти всех (за исключением Г6ФДГ) ферментов определялась выше, чем при среднетяжелом течении ОРВИ. Так, достоверно более высоким, чем в предыдущей группе больных, были показатели ГЗФДГ (соответственно  $113,38 \pm 14,30$  и  $51,58 \pm 5,92$ ;  $p < 0,001$ ), ЛДГ ( $1,23 \pm 0,19$  и  $0,49 \pm 0,08$ ;  $p < 0,001$ ), НАДИЦДГ ( $0,45 \pm 0,08$  и  $0,13 \pm 0,02$ ;  $p < 0,001$ ), НАДФИЦДГ ( $0,30 \pm 0,05$  и  $0,04 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ), НАДГДГ ( $121,42 \pm 16,53$  и  $58,91 \pm 5,49$ ;  $p < 0,001$ ), НАДФГДГ ( $7,51 \pm 0,87$  и  $1,23 \pm 0,18$ ;  $p < 0,001$ ), НАДМДГ ( $111,20 \pm 8,79$  и  $84,16 \pm 13,70$ ;  $p < 0,001$ ), НАДФМДГ ( $3,72 \pm 0,42$  и  $1,19 \pm 0,15$ ;  $p < 0,001$ ), а также ГР ( $7,87 \pm 0,57$  и  $5,00 \pm 0,25$ ;  $p < 0,001$ ). И только активность фермента Г6ФДГ определялась ниже в группе с более тяжелым течением ОРВИ, не отличаясь при этом и от уровня контрольного значения.

### Выводы

1. При среднетяжелом течении ОРВИ у пациентов более активно, чем у здоровых, осуществляется пополнение гликолиза субстратами с липидного обмена, что, обеспечивая возможность более интенсивного оттока субстратов на пентозофосфатный путь.
2. Активность реакций начального этапа ЦТК в лимфоцитах больных со среднетяжелым течением ОРВИ в десятки раз ниже, что является причиной дополнительного привлечения субстратов с аминокислотного обмена через реакции, катализируемые НАД- и НАДФ-глутаматдегидрогеназой для сохранения возможностей цикла по выработке макроэргов.

3. Высокий показатель глутатиоредуктазы (ГР) связан с условиями патологического процесса (ОРВИ) с участием иммунокомпетентных клеток, но и осуществляет активный транспорт в них аминокислот.
4. Показатель НАДМДГ у пациентов с ОРВИ выше в 3,89 раза, а НАДФМДГ – в 3,61 раза по сравнению с контролем, то есть повышены как выработка АТФ, так и объем субстратов ЦТК на гликолиз реакцией малат-пируват, а более высокое количество последнего является фактором, снижающим активность реакции лактат-пируват.
5. Более тяжелый вариант течения ОРВИ сопровождается и более выраженной интенсификацией ряда внутриклеточных реакций ЦТК, о чем свидетельствуют более высокие, чем при среднетяжелом течении ОРВИ показатели ферментов.
6. Показатели ГЗФДГ увеличиваются с утяжелением заболевания, а показатели ЛДГ повышены у больных со среднетяжелым течением заболевания.
7. Активность Г6ФДГ не отличалась от контрольной, и была ниже, чем в группе со среднетяжелым течением заболевания, что определяло тяжесть течения ОРВИ, так как этот фермент отражает интенсивность реакций в ПФП и обеспечение внутриклеточным метаболизмом способности лимфоцитов к синтетическим, пластическим и пролиферативным процессам.
8. Без повышенных же возможностей клеток к пролиферации, синтезу цитокинов, иммуноглобулинов и других гуморальных факторов невозможно развитие иммунного ответа, адекватного условиям, предъявляемым инфекционной агрессией.

### Литература

1. Булыгин Г.В., Казакова Г.Н., Каспаров Э.В. Особенности структурно-метаболических параметров Т- и В-лимфоцитов здорового человека и при некоторых патологических состояниях. – Красноярск: «Сибирь», 1998. – 127 с.
2. Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Андрейчиков А.В. Метаболические основы регуляции иммунного ответа. – Новосибирск: СО РАМН, 1999. – 346 с.
3. Бурместер Г.Р., Пецутто А. Наглядная иммунология. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 320 с.
4. Гаврилов А.В. Цитохомия липидов нейтрофильных лейкоцитов периферической крови у больных гриппом А (H3N2). – Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2006. – № 22. – С. 36-39.
5. Деева Э.Г. Грипп. На пороге пандемии: руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.

6. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. - 604 с.
7. Карпухин Г.И., Карпухина О.Г. Диагностика, профилактика и лечение острых

респираторных заболеваний. - СПб.: Гиппократ, 2000. - 184 с.

8. Карпухин Г.И. Грипп. Руководство для врачей.- СПб.: Гиппократ, 2001.-360 с.

#### Сведения об авторах

**Сергеева Ирина Владимировна**, ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО, кандидат медицинских наук, ул.Курчатова, 17, 8 (391) 246-93-75.

**Тихонова Елена Петровна**, зав.кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО, доктор медицинских наук, профессор, ул.Курчатова, 17, 8 (391) 246-93-75.

**Камзалакова Наталья Ивановна**, зав.кафедрой клинической иммунологии, доктор медицинских наук, профессор, Партизана Железняка За, 8 (391) 220-15-52.

**Булыгин Геннадий Викторович**, профессор кафедры клинической иммунологии, доктор медицинских наук, профессор, Партизана Железняка За, 8 (391) 220-15-52.