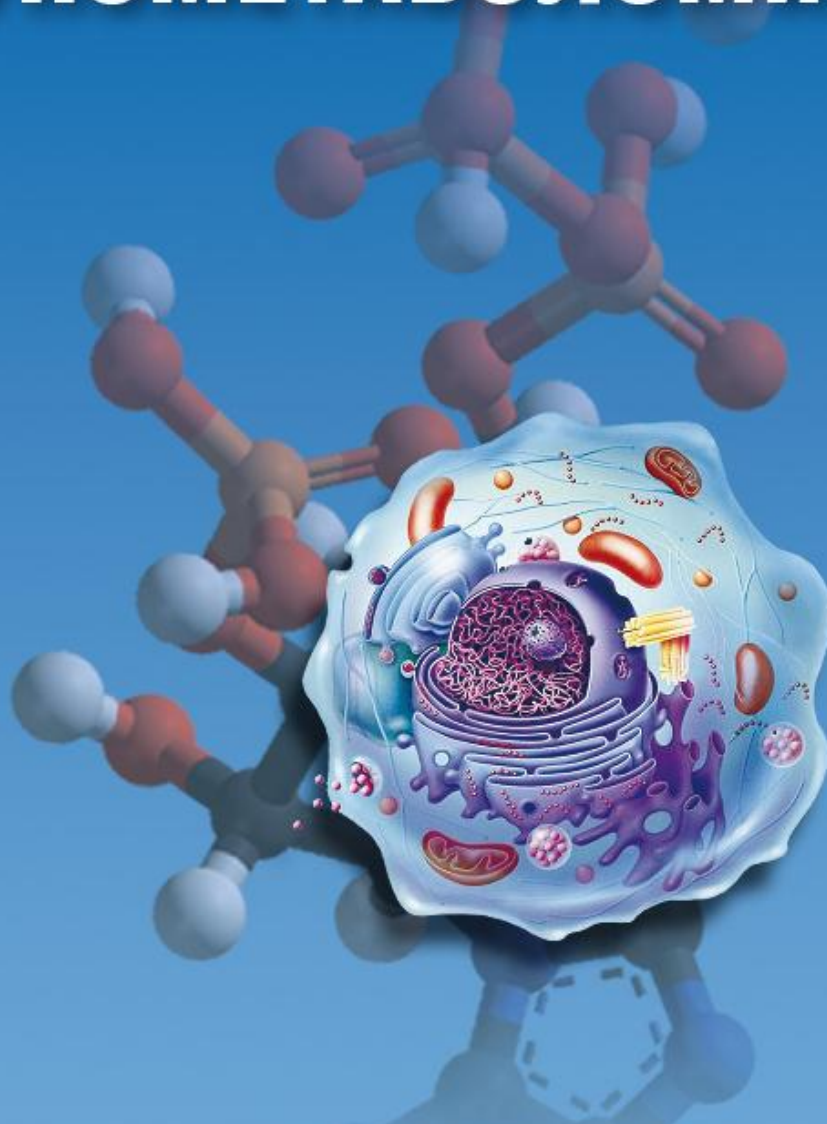




А. А. Савченко, А. Г. Борисов

ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОМЕТАБОЛОМИКИ



Новосибирск ● «Наука» ● 2012

Данное пособие является ознакомительным
Коммерческое использование данного файла запрещено

Еще больше полезного и уникального
материала ищите в нашем сообществе
ВраЧитаЛЛа (самообразование врача)



ВраЧитаЛЛа

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
С И Б И Р С К О Е О Т Д Е Л Е Н И Е
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕДИЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ СЕВЕРА

А.А. Савченко, А.Г. Борисов

ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОМЕТАБОЛОМИКИ



Новосибирск

«НАУКА»

2012

УДК 612.017.1
ББК 52.54
С 12

Савченко А.А. Основы клинической иммунометаболомики / А.А. Савченко, А.Г. Борисов.– Новосибирск: Наука, 2012. – 263 с.

ISBN 975-5-02-019117-4

В монографии обобщены современные данные о метаболических механизмах функционирования клеток иммунной системы при различных иммунопатологических состояниях. Описаны методы клинической и лабораторной диагностики иммунометаболических нарушений. Особое внимание уделено разделам частной иммунометаболомики в клинике внутренних болезней и современным методам иммунометаболической терапии.

Книга представляет интерес для иммунологов, для врачей всех специальностей, а также рекомендуется в качестве справочного пособия для студентов и аспирантов медицинских и биологических вузов.

Табл. 11. Ил. 63. Библиогр.: 308 назв.

Р е ц е н з е н т ы

доктор медицинских наук, профессор Л.М. Куртасова
доктор медицинских наук, профессор А.А. Останин

Утверждено к печати Ученым советом
Научно-исследовательского института медицинских проблем
Севера СО РАМН

Без объявления

ISBN 978-5-02-019117-4

© А.А. Савченко, А.Г. Борисов, 2012
© Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАМН, 2012

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. ОБЩАЯ СТРУКТУРА МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТКИ.....	8
1.1. Энергетическое звено метаболизма.....	10
1.2. Пластическое звено метаболизма.....	16
1.3. Утилизация продуктов метаболизма.....	21
1.4. Роль оксидоредуктаз в системе внутриклеточного обмена.....	25
Глава 2. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКТИВНОСТИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.....	36
2.1. Метаболизм в лимфоцитах в процессе их функционирования в норме и при патологии.....	36
2.2. Метаболизм гранулоцитов и макрофагов в состоянии относительного покоя и при фагоцитозе.....	42
Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ.....	48
3.1. Клиническая диагностика иммунометаболических нарушений.....	48
3.1.1. Иммунопатологические синдромы при заболевании внутренних органов.....	49
3.1.2. Классификация иммунопатологических состояний.....	62
3.1.3. Клинические проявления метаболических нарушений функции клеток иммунной системы.....	66
3.2. Лабораторная диагностика иммунометаболических нарушений.....	69
3.2.1. Оценка показателей клеточного иммунитета.....	72
3.2.2. Оценка показателей гуморального иммунитета.....	79
3.2.3. Изучение метаболизма клеток иммунной системы.....	81
Глава 4. ЧАСТНАЯ ИММУНОМЕТАБОЛИМИКА В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ.....	89
4.1. Особенности метаболизма лимфоцитов у больных раком легкого.....	89
4.1.1. Активность ферментов лимфоцитов в зависимости от гистологической структуры рака легкого.....	91
4.1.2. Уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов на разных стадиях немелкоклеточного рака легкого.....	104
4.1.3. Особенности уровней активности НАД- и НАДФ-зависи-	

ных дегидрогеназ в зависимости от полиморфизма гена р53 у больных раком легкого.....	117
4.1.4. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных раком легкого в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.....	135
4.2. Метаболизм лимфоцитов при вирусных инфекциях.....	142
4.2.1. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных рецидивирующим герпесом.....	142
4.2.2. Состояние уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных острым вирусным гепатитом В при разной степени вирусной нагрузки.....	148
4.3. Метаболизм лимфоцитов при бактериальных инфекциях.....	154
4.3.1. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов в зависимости от степени тяжести распространенного гнойного перитонита.....	154
4.3.2. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания.....	160
4.3.3. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных острыми и хроническими гайморитами.....	166
4.4. Метаболизм лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы.....	169
4.5. Метаболизм лимфоцитов при аллергических заболеваниях...	178
Глава 5. ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ.....	186
5.1. Препараты, преимущественно влияющие на энергетические процессы клетки.....	189
5.1.1. Регуляторы энергетических процессов.....	189
5.1.2. Естественные метаболиты энергетических процессов.....	194
5.1.3. Антигипоксантаы.....	197
5.2. Средства, направленные на стимуляцию пластических реакций клетки.....	199
5.2.1. Регуляторы пластических процессов.....	200
5.2.2. Естественные метаболиты.....	210
5.2.3. Индукторы синтеза интерферонов.....	214

5.3. Средства, устраняющие продукты метаболизма клетки.....	217
5.3.1. Средства, способствующие утилизации продуктов метаболизма.....	217
5.3.2. Антиоксиданты.....	219
5.3.3. Стабилизаторы мембран.....	223
5.4. Детоксикационная (эфферентная) терапия.....	224
5.4.1. Стимуляция выведения токсинов.....	225
5.4.2. Неинвазивные сорбционные методы детоксикации.....	227
5.4.3. Инвазивные методы эфферентной терапии.....	228
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	232
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	240

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	–	аденозиндифосфат
АЗЩЖ	–	аутоиммунные заболевания щитовидной железы
АИТ	–	аутоиммунный тиреоидит
АТкТПО	–	антитела к тиреоидной пероксидазе
АТФ	–	аденозинтрифосфат
ВГВ	–	вирус гепатита В
ГЗФДГ	–	глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (НАД-зависимая)
Г6ФДГ	–	глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГР	–	глутатионредуктаза
ГТФ	–	гуанозинтрифосфат
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТЗ	–	диффузный токсический зоб
ДТТ	–	дитиотреитол
ИФА	–	иммуноферментный анализ
ИФН- γ	–	интерферон- γ
ЛДГ	–	лактатдегидрогеназа
МДГ	–	малатдегидрогеназа
МИП	–	Мангеймский индекс перитонита
МРЛ	–	мелкоклеточный рак легкого
мРНК	–	матричная рибонуклеиновая кислота
НАД ⁺	–	никотинамиддинуклеотид окисленный
НАДГДГ	–	НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа
НАДН	–	никотинамиддинуклеотид восстановленный
НАДН-ГДГ	–	НАДН-зависимая реакция глутаматдегидрогеназы
НАДН-ЛДГ	–	НАДН-зависимая реакция ЛДГ (анаэробная)
НАДН-МДГ	–	НАДН-зависимая реакция МДГ
НАДФ ⁺	–	никотинамиддинуклеотидфосфат окисленный
НАДФГДГ	–	НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа

НАДФГДГ	– НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа
НАДФМДГ	– НАДФ-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа (малик-фермент)
НАДФМДГ	– НАДФ-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа (малик-фермент)
НАДФН	– никотинамиддинуклеотидфосфат восстановленный
НАДФН-ГДГ	– НАДФН-зависимая реакция глутаматдегидрогеназы
НМРЛ	– немелкоклеточный рак легкого
НЭ	– неспецифическая эстераза
ОВГВ	– острый вирусный гепатит В
ОГ	– острый гайморит
ОГДГК	– 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс
ОРВИ	– острые респираторные вирусные инфекции
ПДГК	– пируватдегидрогеназный комплекс
ПКР	– плоскоклеточный рак легкого
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ПОН	– полиорганная недостаточность
РГВИ	– рецидивирующая герпесвирусная инфекция
РГП	– распространенный гнойный перитонит
РНК	– рибонуклеиновая кислота
СДГ	– сукцинатдегидрогеназа
СК	– стволовая клетка
тРНК	– транспортная рибонуклеиновая кислота
ФАД	– флавинадениндинуклеотид
ФМН	– флавинмононуклеотид
ФНО- α	– фактора некроза опухоли- α
ХГ	– хронический гайморит
CD	– кластер дифференцировки
GST	– глутатион-S-трансфераза
GSTM1	– глутатион-S-трансферазы класса M1
GSTT1	– глутатион-S-трансферазы класса T1

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система в связи с ее функциональными задачами является ключевой в защите организма от патогенных внешних и внутренних факторов, принимает участие во всех регуляторных процессах в организме. Многообразие функций иммунитета и чувствительность к воздействию различных факторов приводят к тому, что нарушения в иммунной системе могут встречаться при самых различных заболеваниях, причем зачастую во многом определяя патогенез самого заболевания. С дисфункцией иммунитета связано развитие инфекционной, онкологической и аутоиммунной патологий, различных видов аллергий и других хронических форм заболеваний. Кроме того, даже если нарушения в иммунной системе не определяют патогенез основного заболевания, то могут влиять на чувствительность к препаратам, характер течения и исход основного патологического процесса, не говоря уже о развитии осложнений. Без нормализации работы иммунной системы невозможно окончательное выздоровление больного. В то же время известно, что наиболее ранние признаки нарушений иммунного гомеостаза следует искать на клеточном уровне, где начинается формирование ответных реакций на внешние воздействия, что, в свою очередь, позволяет составить представление о метаболической стратегии иммунного ответа, избранной организмом.

Метаболизм клетки протекает не хаотично; он интегрирован и тонко настроен. Все превращения внутриклеточных веществ (энергетика, синтез, утилизация продуктов метаболизма) взаимосвязаны, скоординированы и регулируются механизмами, придающими биохимическим процессам нужное направление, поэтому в комплексном лечении больных с иммунными дисфункциями помимо исключения этиологических факторов (если они выявлены), устранения патогенного агента, иммуноактивной терапии и детоксикации обязательным условием является применение средств, улучшающих внутриклеточный метаболизм.

Глава 1. ОБЩАЯ СТРУКТУРА МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТКИ

В каждой клетке протекают сотни химических реакций, совокупность которых представляет обмен веществ (метаболизм). Однако в организме человека обмен веществ протекает не хаотично; он интегрирован и тонко настроен. Все превращения органических веществ, процессы синтеза и распада взаимосвязаны, координированы и регулируются механизмами, придающими химическим процессам нужное направление. В организме человека вообще, не существует самостоятельного обмена белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот. Все превращения объединены в целостный процесс метаболизма, подчиняющийся диалектическим закономерностям взаимозависимости и взаимообусловленности, допускающий также взаимопревращения между отдельными классами органических веществ. Подобные взаимопревращения диктуются физиологическими потребностями клетки и организма в целом, а также целесообразностью замены одних классов органических веществ другими в условиях блокирования какого-либо процесса при адаптационных процессах и патологии.

Принципиально метаболизм включает в себя три взаимосвязанных между собой процесса:

- 1 – распад органических веществ (углеводы, жиры, белки) с аккумуляцией энергии – энергетическое звено;
- 2 – синтез мономеров и макромолекул (с затратой энергии), в том числе гормонов, ферментов, кофакторов и пр. – пластическое звено;
- 3 – процесс обезвреживания и выведение токсичных продуктов полученных в результате обмена веществ (продуктов метаболизма), в том числе свободных радикалов – звено утилизации.

Основные метаболические пути являются общими для большинства клеток и организмов. Это пути, в результате которых осуществляются синтез, распад и взаимопревращение наиболее важных метаболитов (химических соединений, участвующих в обмене веществ), а также накопление химической энергии приводится ниже в упрощенном виде (рис. 1.1).

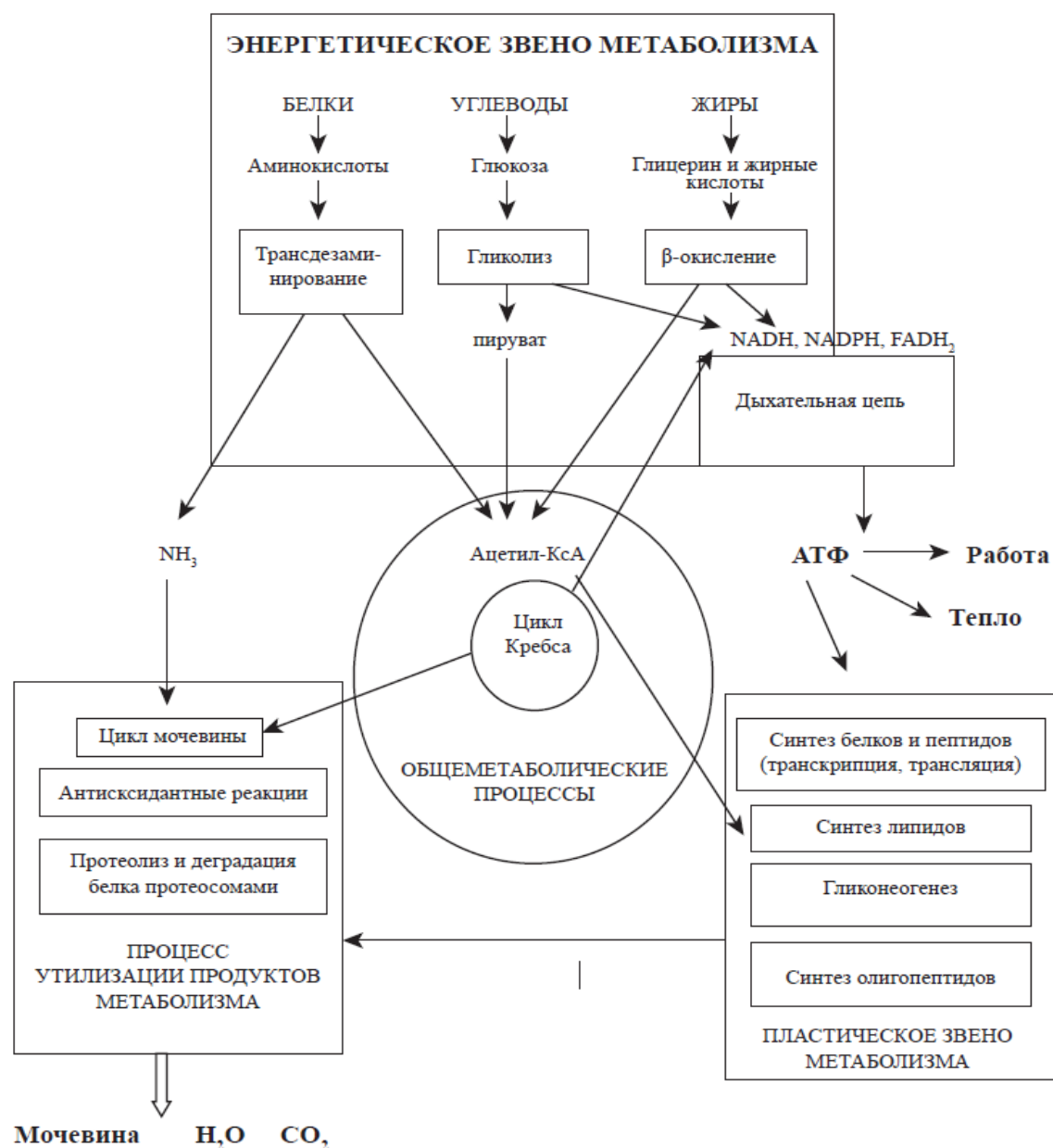


Рис. 1.1. Обобщенная схема внутриклеточного метаболизма.

Полученные питательных веществ (белки, углеводы, нуклеиновые кислоты и липиды) не могут утилизироваться непосредственно, они сначала разрушаются, т.е. катаболизируются до более мелких фрагментов с высвобождением свободной энергии (катаболизм). Возникающие метаболиты в дальнейшем могут использоваться для синтеза более сложных молекул (анаболизм). Катаболические и анаболические процессы взаимосвязаны между собой и формируют систему промежуточного метаболизма (рис. 1.2).

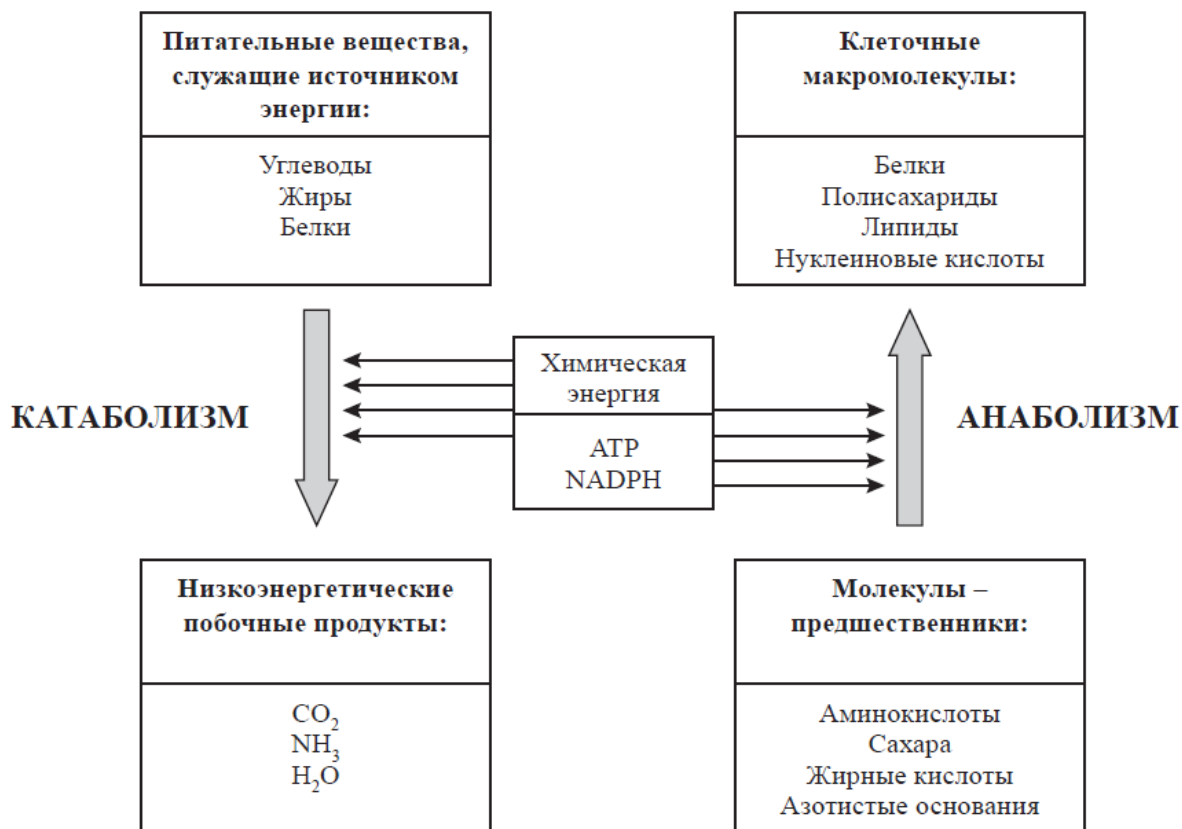


Рис. 1.2. Структура системы промежуточного метаболизма.

Из многочисленных метаболитов наиболее важны пируват и ацетил-КоА. Эти соединения служат связующими элементами между метаболизмом белков, углеводов и липидов. К метаболическому пулу принадлежат также промежуточные метаболиты лимонного цикла. Этот циклический путь (цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса) играет как катаболическую, так и анаболическую роль, т.е. является амфиболическим. К конечным продуктам разрушения органических веществ у животных относятся диоксид углерода (CO₂), вода (H₂O) и аммиак (NH₃). Аммиак превращается в мочевины и в такой форме выводится из организма.

1.1. Энергетическое звено метаболизма

Источником энергии, используемым организмом для выполнения всех видов работ служит энергия химической связи. Высвобождение энергии осуществляется в результате окислительно-восстановительного распада простых метаболитов: глюкозы, аминокислот, глицерина, жирных кис-

лот, которые получаются при превращении сложных вещества в пищеварительном тракте.

На I этапе полисахариды расщепляются до моносахаридов (обычно гексоз). Жиры распадаются на глицерин и высшие жирные кислоты, а белки – на составляющие их свободные аминокислоты. Эти процессы в основном являются гидролитическими, и освобождающаяся в небольшом количестве энергия используется в качестве тепла (рис. 1.3).

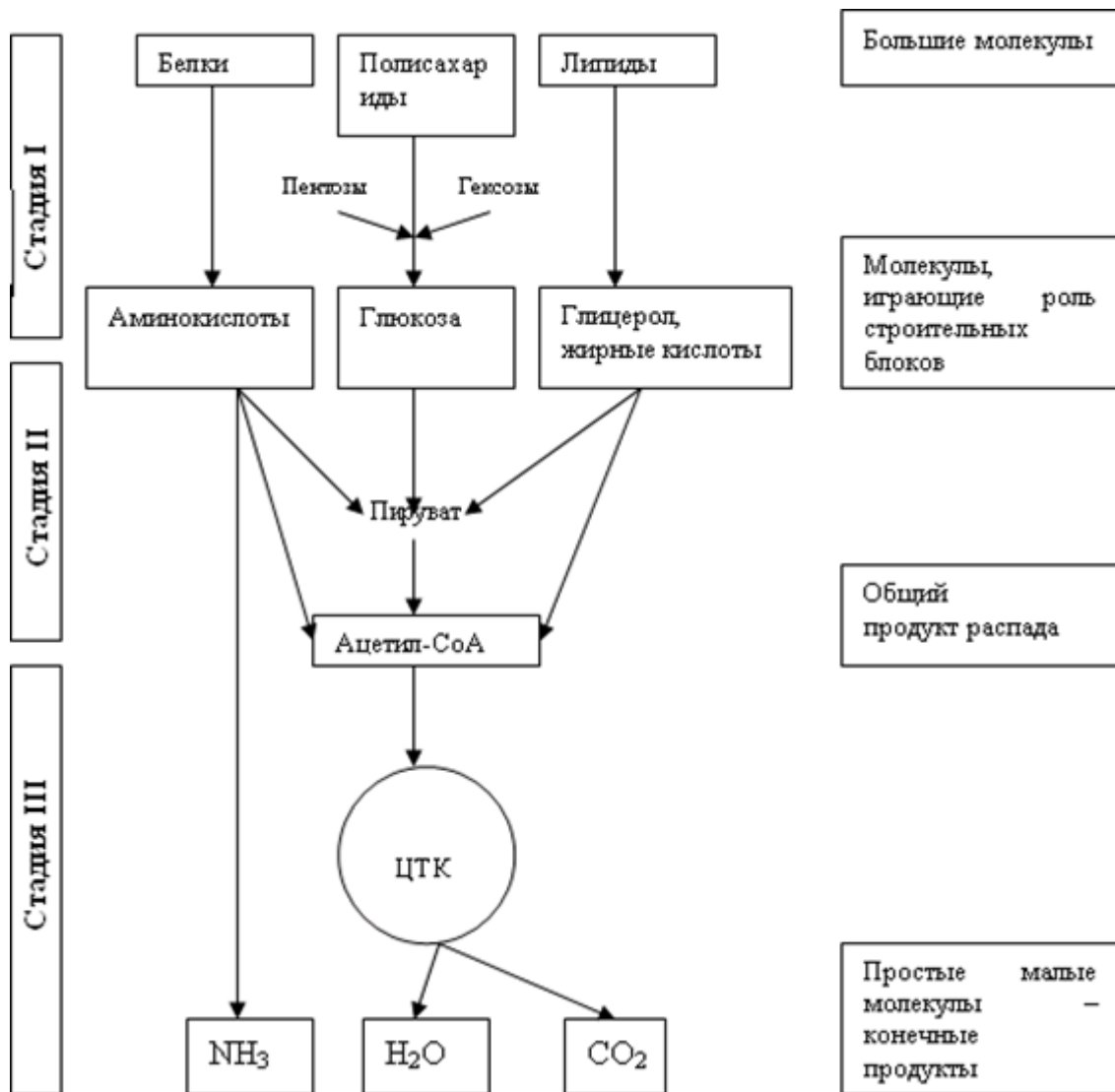


Рис. 1.3. Этапы катаболического превращения крупных молекул.

ЦТК – цикл трикарбоновых веществ.

На II этапе мономерные молекулы (гексозы, глицерин, жирные кислоты и аминокислоты) подвергаются дальнейшему распаду, в процессе которого образуются богатые энергией фосфатные соединения и ацетил-КоА.

В частности, при гликолизе гексозы расщепляются до пировиноградной кислоты и далее до ацетил-КоА. Этот процесс сопровождается образованием ограниченного числа богатых энергией фосфатных связей путем субстратного фосфорилирования. Высшие жирные кислоты на этом этапе распадаются до ацетил-КоА, в то время как глицерин окисляется по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты и далее до ацетил-КоА.

Использования аминокислот как источника энергии (при дефиците углеводов) осуществляется по-разному. Одни аминокислоты непосредственно превращаются в метаболиты цикла Кребса (глутамат, аспартат), другие – опосредованно через глутамат (пролин, гистидин, аргинин), третьи – в пируват и далее в ацетил-КоА (аланин, серин, глицин, цистеин), некоторые из них, в частности лейцин, изолейцин, расщепляются до ацетил-КоА, а из фенилаланина и тирозина помимо ацетил-КоА, образуется оксалоацетат (через фумаровую кислоту).

Таким образом, на II этапе происходит образование ацетил-КоА, являющегося, по существу, единым (общим) промежуточным продуктом катаболизма основных пищевых веществ в клетках.

На III этапе ацетил-КоА подвергаются окислению («сгоранию») в цикле трикарбоновых кислот, которое сопровождается образованием восстановленных форм НАДН и ФАДН₂.

По существу, первые три этапа можно определить как процесс катаболического превращения крупных молекул.

На IV этапе электроны переносятся от восстановленных нуклеотидов на кислород (через дыхательную цепь). Это сопровождается образованием конечного продукта – молекул воды. Транспорт электронов сопряжен с синтезом АТФ в процессе окислительного фосфорилирования.

Окислительное фосфорилирование самый эффективный способ синтеза АТФ, в результате которого компоненты дыхательной цепи катализируют перенос электронов от НАДН (или восстановленного убихинона) на молекулярный кислород. При этом образуется энергия для синтеза АТФ. Это постоянно действующий и наиболее эффективный путь энергообразования в клетках всех типов, так как в нем наряду с глюкозой могут быть использованы не только жирные кислоты, но и кетоновые тела. Подчеркнем, что при снижении парциального давления кислорода до 90 мм. рт. ст. скорость аэробного гликолиза и окислительного фосфорилирования существенно снижаются. Клиническим эквивалентом этого снижения являются слабость, разбитость, плохое самочувствие.

Помимо основного источника энергии описанного выше существуют альтернативные источники получения энергии.

1. Анаэробный гликолиз – при отсутствии или недостатке в клетке кислорода пировиноградная кислота подвергается восстановлению до молочной кислоты (боли в мышцах, возникающие через некоторое время после непривычной интенсивной физической нагрузки, связаны именно с накоплением в них молочной кислоты). Образование молочной кислоты не является конечным продуктом обмена веществ. Под действием лактатдегидрогеназы молочная кислота окисляется снова в пируват. Кроме того, током крови молочная кислота переносится в печень, где превращается в глюкозу, которая через кровь разносится по всему организму (цикл Кори) (рис. 1.4). Без существенных последствий для организма анаэробный гликолиз может покрывать кратковременные энергетические нагрузки, даже субмаксимальные. Однако при заболеваниях анаэробный гликолиз не обеспечивает в полной мере потребности клеток в энергии. При этом накапливается молочная кислота, и в результате этого возникает недостаточность функциональных систем, в том числе, не связанных напрямую с пораженной системой или органом.



Рис. 1.4. Цикл Кори.

2. Субстратное фосфорилирование – образование АТФ в ходе метаболического цикла (переход сукцинат-КоА в сукцинат в цикле Кребса и образование пирувата при гликолизе) (рис. 1.5). Эти реакции способны на некоторое время поддержать жизнедеятельность организма в отсутствии окислительного фосфорилирования.

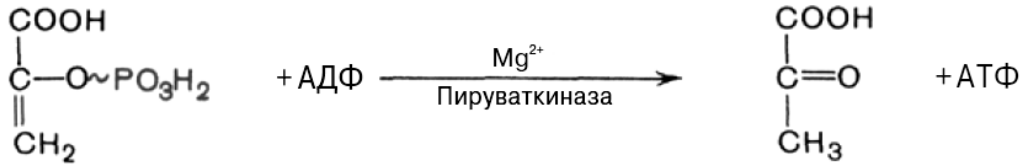


Рис. 1.5. Пример реакции субстратного фосфорилирования: образование пирувата в гликолизе.

3. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы (или «пентозный шунт») необходим для ресинтеза жирных кислот и предшественников нуклеотидов. При этом образуется НАДФН и продукты способные включаться в гликолиз и далее в цикл трикарбоновых кислот (рис. 1.6).
4. Гидролиз креатинфосфата – быстрый и кратковременный путь получения энергии за счет гидролиза креатинфосфата (рис. 1.7).

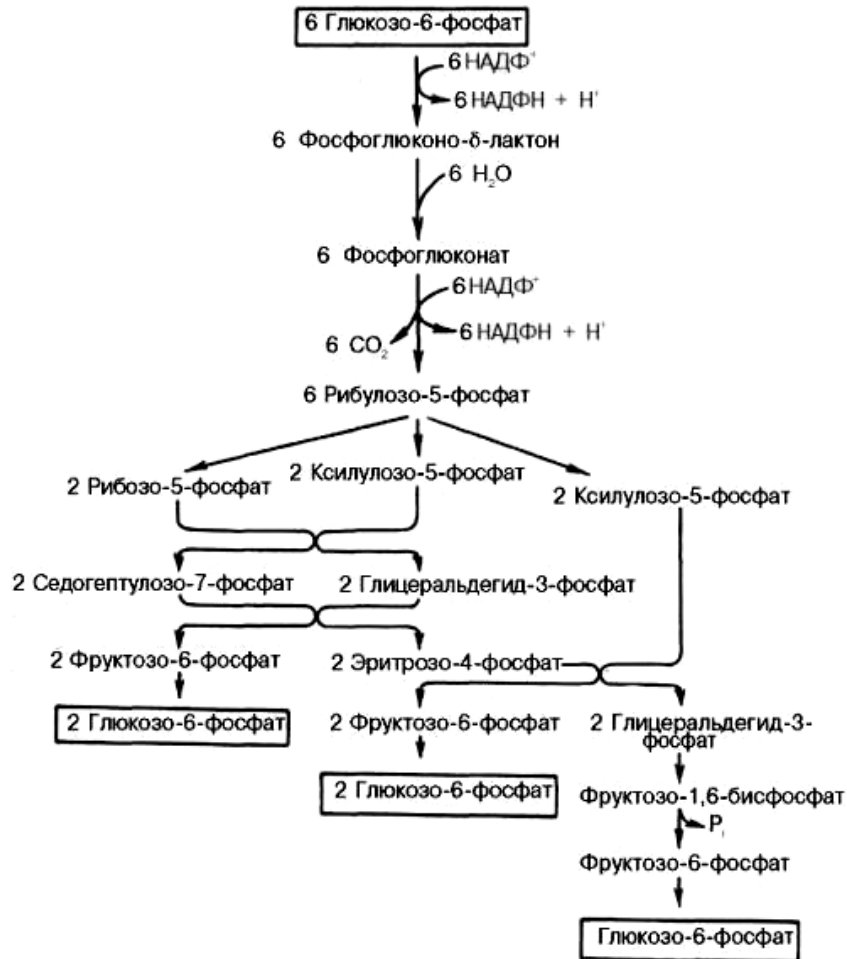


Рис. 1.6. Пентозофосфатный цикл.

Цифрами показано число молекул, вступивших или образовавшихся в реакции.

5. Образование инозинмонофосфата в результате конверсии АДФ в АТФ и АМФ (рис. 1.8).

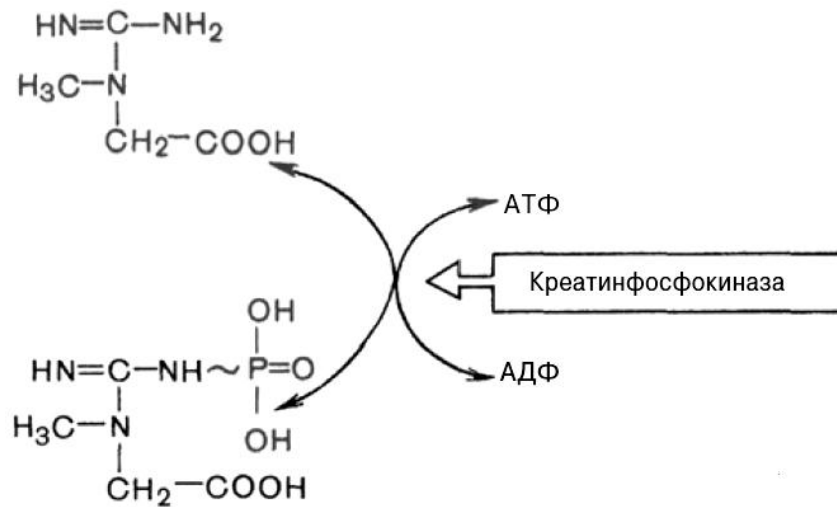


Рис. 1.7. Ферментативная реакция с участием креатинфосфокиназы.

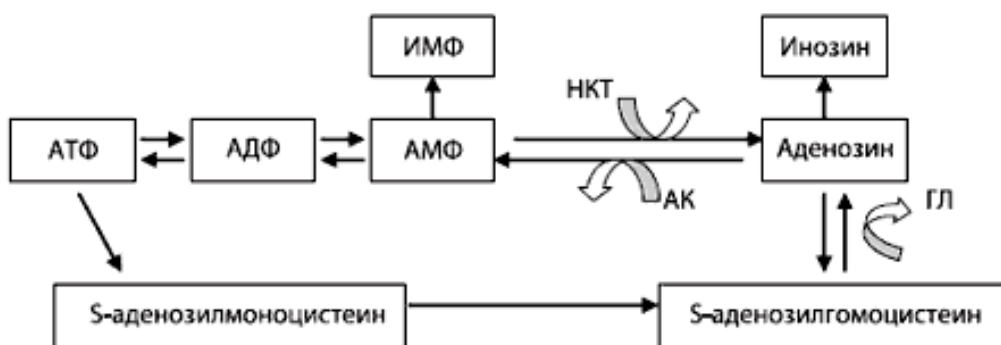


Рис. 1.8. Основные пути внутриклеточной биотрансформации аденозина.

ИМФ – инозинмонофосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, АДФ – аденозиндифосфат, АМФ – аденозинмонофосфат, НКТ – 5-нуклеотидаза, АК – аденозинкиназа, ГЛ – гидролаза.

6. β -Окисление жирных кислот происходит в митохондриях, при низкой концентрации пирувата и высоком содержании НАД^+ (рис. 1.9).

Таким образом, основным источником энергии является цикл Кребса сопряженный с окислительным фосфорилированием. Главным и быстро мобилизуемым исходным субстратом служит глюкоза. Ее метаболизм покрывает основной обмен и обеспечивает жизнедеятельность организма. Главным регуляторным механизмом цикла трикарбоновых кислот и отчасти окислительного фосфорилирования является кругооборот окислительно-восстановительных эквивалентов, которые обозначают отношением $\text{НАДН}/\text{НАД}^+$.

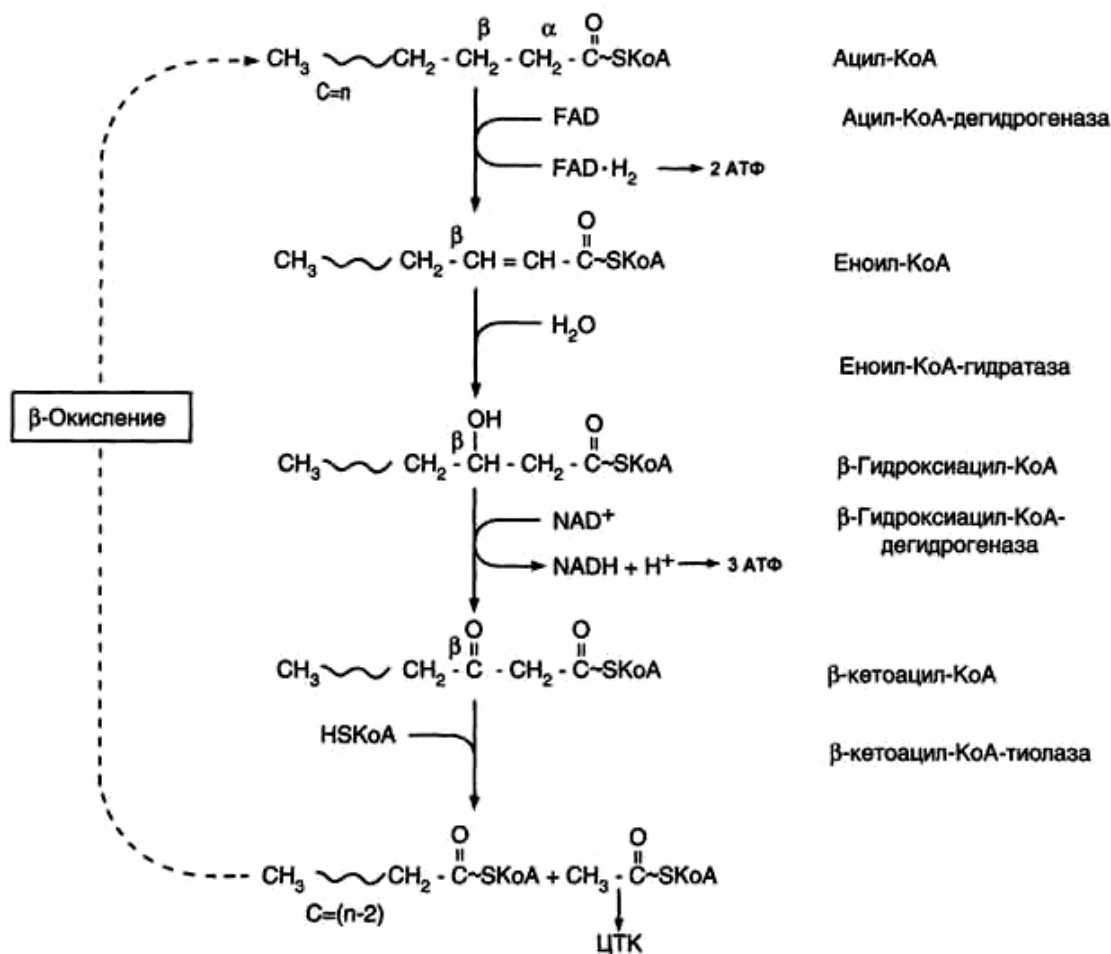


Рис. 1.9. β -Окисление жирных кислот [по: Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998].

1.2. Пластическое звено метаболизма

Синтез мономеров и макромолекул, в том числе гормонов, ферментов, кофакторов, является основным фактором жизнедеятельности клетки, без которого невозможно предствать нормальную жизнедеятельность организма.

Наиболее сложным и важным является процесс синтеза белка. От этого зависит приспособление к физиологическим потребностям при изменении внутренних и внешних условий, т.е. синтез белка регулируется внешними и внутренними факторами и условиями, которые диктуют клетке, какой набор белка и его количество необходимо синтезировать для выполнения физиологических функций.

Любая живая клетка способна синтезировать белки, особенно в период роста и развития клеток (фаза клеточного цикла G_1). В это время активно синтезируются белки для построения клеточных органоидов, мембран, синтезируются ферменты. Биосинтез белков идет интенсивно и в зрелых клетках, этим и определяется их функциональная активность: в клетках пищеварительных желез, синтезирующих белки-ферменты (пепсин, трипсин), в клетках желез внутренней секреции, синтезирующих белки-гормоны (инсулин, соматотропин), плазматические клетки синтезируют иммуноглобулины, Т-лимфоциты – цитокины и т.д.

Биосинтез белка – сложнейший многостадийный процесс синтеза полипептидной цепи в клетках живых организмов. Упрощенно биосинтез белка можно разделить на стадии транскрипции и трансляции.

Транскрипция – процесс считывания генетического кода с молекулы ДНК. В ДНК содержится и хранится информация о составе первичных структур разных белков. Отрезок ДНК, содержащий информацию о структуре одного белка, называют геном. Молекула ДНК представляет собрание множества генов. При этом на одной из цепочек ДНК синтезируется одноцепочечная молекула информационной или матричной РНК (мРНК). Каждой аминокислоте соответствует участок цепи ДНК из трех рядом стоящих нуклеотидов (кодон). Основную роль в транскрипции играет фермент РНК-полимераза.

Готовая мРНК, кодирующая аминокислотную последовательность будущей белковой цепи, образует затем сложный комплекс со специальной клеточной органеллой – рибосомой. На рибосомах идет второй этап биосинтеза белка – трансляция.

Трансляция заключается в синтезе полипептидной цепи в соответствии с информацией, закодированной в мРНК. Аминокислотная последовательность выстраивается при помощи транспортных РНК (тРНК). Каждой аминокислоте соответствует своя тРНК, имеющая соответствующий антикодон, «подходящий» к кодону мРНК. Во время трансляции рибосома движется вдоль мРНК, по мере этого наращивается полипептидная цепь. Энергией биосинтез белка обеспечивается за счет АТФ.

В дальнейшем при помощи вспомогательных белков шаперонов складывается биологически активная конформация пептидной цепи (свертывание). При посттрансляционном созревании у многих белков удаляются части пептидной цепи или присоединяются дополнительные группы, например олигосахариды или липиды. Эти процессы происходят в эндоплазматическом ретикулуме и в аппарате Гольджи. Затем готовая белковая молекула транспортируется в нужное место клетки.

Значительно проще синтезируются углеводы и липиды. Это ни что иное, как цикл простых биохимических реакций катализируемых ферментами. Исходными субстратами служат вещества, поступившие в клетку или полученные при метаболизме.

В условиях дефицита углеводов необходимая концентрация глюкозы в крови может поддерживаться за счет ее синтеза (глюконеогенез). Синтез глюкозы протекает, как и при гликолизе, но в обратном направлении. Исходными соединениями для глюконеогенеза являются некоторые аминокислоты, лактат, а также глицерин, т.е. те вещества, которые способны превратиться в пируват или любой другой метаболит глюконеогенеза (аспартат – в оксалоацетат, глицерин – в триозофосфат и т.д.). При различных физиологических состояниях для глюконеогенеза используются различные первичные вещества. В условиях голодания (недостаток углеводов получаемых с пищей) используется тканевый белок, который распадается до аминокислот. При интенсивной физической работе используется лактат, образующийся в эритроцитах и мышечной ткани при недостатке O_2 . При распаде жиров получается глицерин. В организме человека за счет глюконеогенеза образуется несколько сотен граммов глюкозы в сутки.

Синтез высших жирных кислот может протекать в клетках различных органов и тканей, однако основная масса соединений этого класса синтезируется в печени и в жировой ткани, а важнейшим субстратом, продукты метаболизма которого используются для синтеза липидов, является глюкоза. С наибольшей интенсивностью этот синтез идет в период абсорбции глюкозы в желудочно-кишечном тракте, когда концентрация глюкозы в крови повышена.

Биосинтез липидов основан на синтезе жирных кислот из ацетил-КоА (образуется из глюкозы в результате окисления пирувата) с дальнейшим превращением их в жиры, воск, фосфолипиды и некоторые другие более специализированные биологически активные вещества. Для синтеза из ацетил-КоА в пальмитиновую кислоту помимо ферментов (ацетил-СоА-карбоксилаза, пальмитилсинтетаза) требуется карнитин, осуществляющий перенос ацетил-КоА из митохондрий в цитоплазму, ацилпереносящий белок, на котором происходит сборка ацильных остатков и биотин кофермент ацетил-СоА-карбоксилазы. Под действием ферментов – элонгаз (удлинение цепи) и десатураз (введение двойных связей) – протекает превращение пальмитиновой кислоты в стеариновую и олеиновую.

Необходимо отметить, что ряд полиненасыщенных жирных кислот не синтезируется в организме, хотя они необходимы для нормального функционирования, поэтому линолевая и линоленовая кислоты являются незаменимыми (эссенциальными) и должны поступать в достаточном количестве с пищей. Арахидоновая кислота может синтезироваться в клетках животных из линоленовых кислот, однако в условиях недостаточного поступления линоленовой кислоты с пищей арахидоновая кислота также становится незаменимой жирной кислотой.

Вообще все высшие жирные кислоты, всосавшиеся в клетки кишечника, используются в энтероцитах для ресинтеза различных липидов. При

поступлении в энтероциты моноацилглицериновони через фосфатидную кислоту могут быть превращены в триацилглицерины. При поступлении в энтероциты лизофосфолипидов они превращаются в фосфолипиды.

Эндогенный синтез других липидов осуществляется в цитозоле клетки. Так, для синтеза триглицеридов и фосфолипидов необходим фосфоди-гидроксиацетон – промежуточный продукт расщепления глюкозы или высшие жирные кислоты и глицерин, поступающие в клетки из крови (рис. 1.10). Все необходимые организму глицерофосфолипиды могут синтезироваться в его клетках, причем в клетках могут функционировать несколько альтернативных метаболических путей биосинтеза глицерофосфолипидов.

Сфинголипиды, подобно глицерофосфолипидам, не являются незаменимыми компонентами пищи и могут синтезироваться из других соединений. Для их синтеза нужны в первую очередь сфингозин, активированные жирные кислоты в виде ацил-КоА-производных; активированный холин или активированные мономеры углеводной природы в виде их УДФ-производных для синтеза цереброзидов или ганглиозидов.

Важное значение принадлежит и синтезу холестерина. Общее содержание холестерина в организме составляет около 140 г. Основная масса этого соединения включена в состав мембран всех клеток. Холестерин является предшественником в синтезе других стероидов: желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D₃. Существует два пути поступления холестерина – экзогенный и эндогенный. Суточная потребность человека в холестерине составляет около 1 г. Причем вся потребность в этом соединении может быть удовлетворена за счет его эндогенного синтеза. В то же время экзогенный, т.е. пищевой холестерин, также эффективно усваивается организмом.

Холестерин синтезируется в клетках из двух углеродных группировок ацетил-КоА (рис. 1.11). Процесс синтеза холестерина включает в себя порядка 35 последовательных реакций. Следует отметить, что некоторые промежуточные продукты этого метаболического пути используются для синтеза других соединений. Так, фарнезилпирофосфат используется в клетках для синтеза коэнзима Q, необходимого для работы главной дыхательной цепи митохондрий, или долихола, принимающего участие в синтезе гетероолигосахаридных компонентов гликопротеидов.

Все эти реакции требуют энергетических затрат. Энергия для синтеза доставляется реакцией расщепления АТФ, поэтому каждое звено биосинтеза всегда сопряжено с распадом АТФ.

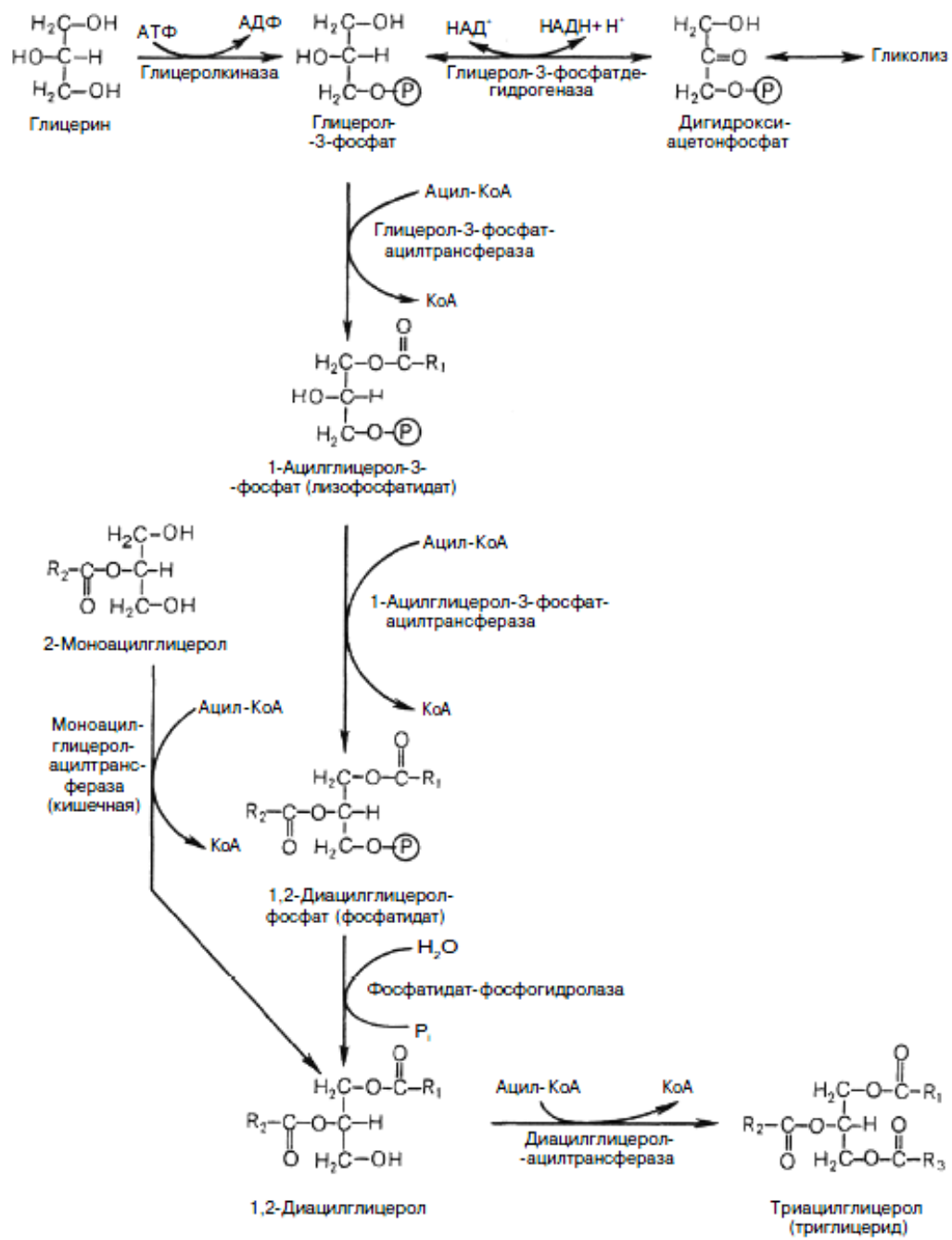


Рис. 1.10. Биосинтез триглицеридов [по: Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998].

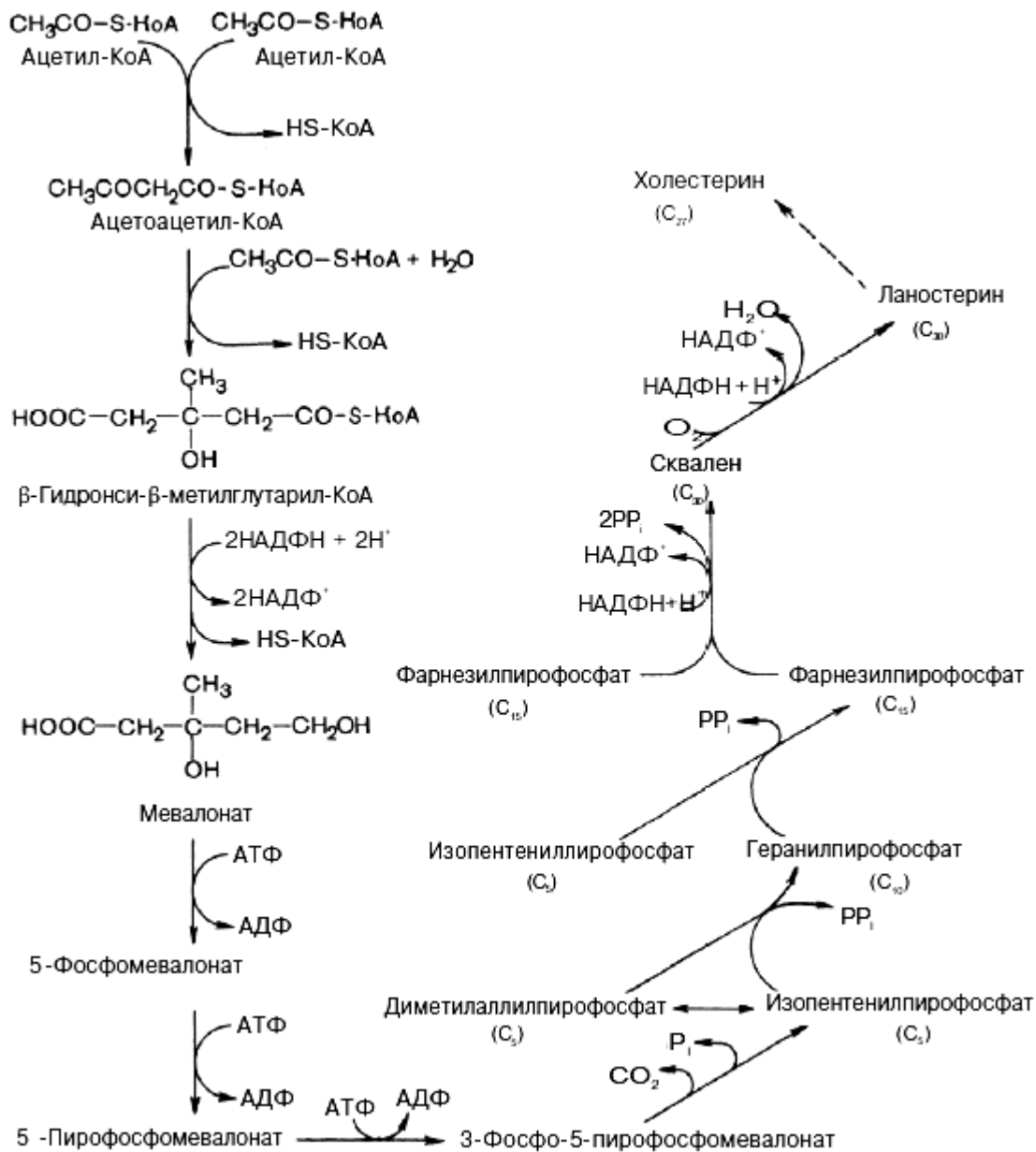


Рис. 1.11. Общая схема синтеза холестерина [по: Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998].

1.3. Утилизация продуктов метаболизма

В процессе жизнедеятельности человека ежедневно разрушается и образуется большое количество органических веществ, прежде всего белков. Это постоянное разрушение и синтез позволяют клеткам быстро приводить в соответствие метаболические потребности с внешними воздействиями. Внутриклеточное разрушение белков происходит частично в ли-

зосомах, частично в протеасомах (в них разрушаются неправильно свернутые или денатурированные белки).

Лизосомы – это органеллы диаметром 0,2–2,0 мкм, окруженные простой мембраной. Обычно на клетку приходится несколько сотен лизосом. Функция лизосом заключается в ферментативной деградации попавших в них макромолекул и клеточных компонентов – органелл. Лизосомы также осуществляют деградацию макромолекул и частиц, захваченных клетками путем эндо- и фагоцитоза. Деградация достигается за счет присутствия в лизосомах различных расщепляющих ферментов – гидролаз с оптимумом действия в кислой области. Главный фермент лизосом – кислая фосфатаза. При рН, близких к нейтральным, характерным для цитоплазмы, эти ферменты обладают низкой активностью. Очевидно, это служит механизмом защиты клеток от самопереваривания в том случае, если лизосомальный фермент случайно попадет в цитоплазму.

При нарушении процессов деградации накапливаются лизосомы с разрушаемыми негидролизованными фрагментами органелл и макромолекул (остаточные тела), что может привести к необратимому повреждению клеток и как результат – к нарушению функций соответствующих органов.

Другая хорошо регулируемая система деградации белков локализована в цитоплазме. Она состоит из больших белковых комплексов, протеасом в виде бочковидной структуры. Это большие мультикаталитические комплексы с молекулярной массой около 2 млн, называемые 26S-протеасомами (т.е. протеиназами, являющимися крупными частицами – «сомами») (рис. 1.12).

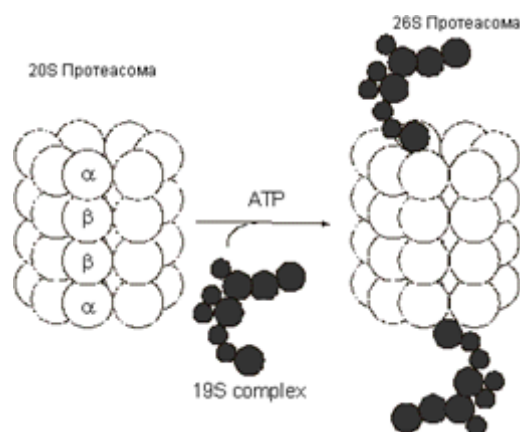


Рис. 1.12. Строение и сборка 26S-протеасомы.

С торцов протеасомы запираются сложно устроенными, контролирующими доступ, структурами. Белки, которым предстоит разрушение в

протеасоме (например, содержащие ошибки транскрипции или состарившиеся молекулы), метятся путем ковалентного связывания с небольшим белком убиквитином. Меченые убиквитином (убиквитинированные) молекулы попадают в протеосомы, где происходит их деградация. Убиквитин не разрушается и после активации используется вновь.

В ходе деградации белков, если полученные аминокислоты повторно не используются для биосинтеза, они расщепляются до конечного продукта – аммиака. Аммиак является конечным продуктом метаболизма белков, аминокислот и других азотистых соединений, т.е. конечным продуктом распада белка. Он высокотоксичен для организма человека, является клеточным ядом, поэтому быстро инактивируется и выводится из организма. В организме человека это осуществляется прежде всего за счет образования мочевины, которое происходит преимущественно в печени. Накапливающийся в тканях аммиак, соединяясь с глутаматом (в основном) и с аспарагиновой кислотой, образует нетоксичные комплексы для транспортировки – глутамин и аланин.

В печени за счет ферментов – трансаминаз происходит высвобождение аммиака из глутамина и аланина. В дальнейшем аммиак синтезируется в нетоксичную мочевину. Мочевина образуется в результате циклической последовательности реакций с участием гидрокарбоната, N-ацетилглутамата, орнитина, аспартата и фумарата (орнитиновый цикл) (рис. 1.13).

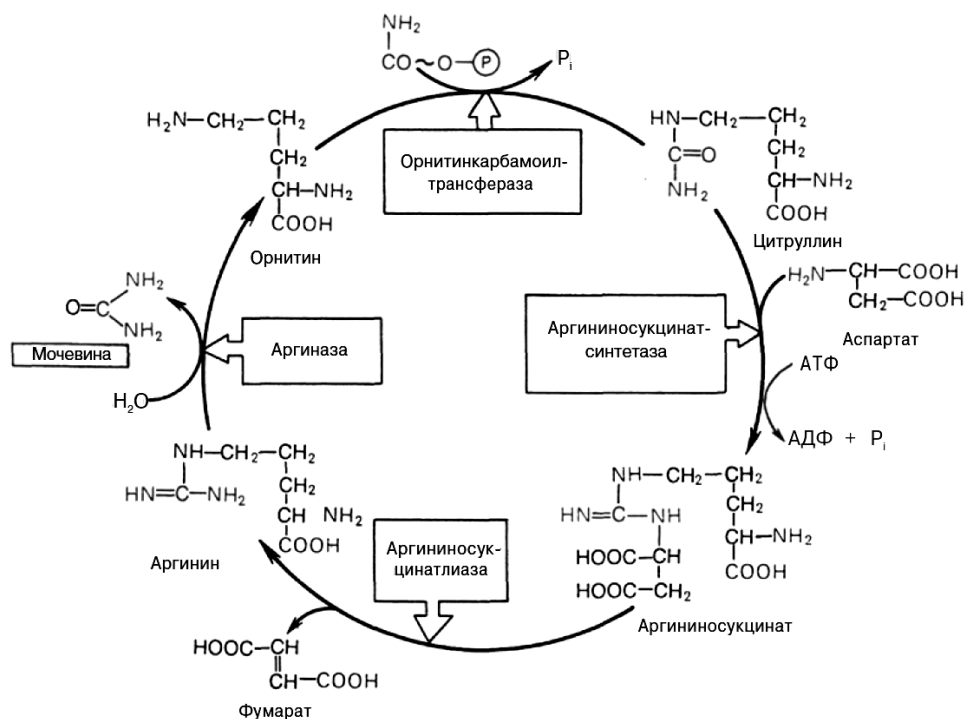


Рис. 1.13. Орнитиновый цикл синтеза мочевины [по: Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998].

Биосинтез мочевины требует больших затрат энергии. При необходимости небольшая молекула мочевины может проходить через мембраны. По этой причине, а также из-за ее хорошей растворимости в воде мочевина легко переносится кровью и выводится с мочой.

Часть аммиака выводится непосредственно почками, где он высвобождается из глутамина за счет гидролиза амидной группы и диффундирует через клеточные мембраны в просвет канальца (в мочу), где соединяется с протонами, образуя соответствующую кислоту. В этой форме он уже не может реабсорбироваться мембранами клеток почечных трубочек и поэтому экскретируется в составе мочи.

Другими повреждающими факторами для клетки, которые возникают в процессе нормального обмена веществ, являются свободные радикалы. Они отличаются от обычных молекул тем, что у них на внешней электронной оболочке имеется неспаренный (одиночный) электрон, за счет добавления или удаления электрона из электронной пары. Это обычно происходит в ходе реакций одноэлектронного окисления или восстановления при участии свободнорадикальных форм кислорода. Обычно реакции свободнорадикального окисления протекают в активном центре соответствующих ферментов, а промежуточные продукты не появляются во внешней среде. Свободные радикалы – жизненно важные и необходимые для клетки соединения. Их образование осуществляется при участии определенных ферментных систем. Многие из них несут очень важные физиологические функции. Так, семихиноны, коэнзим Q и флавопротеины, используются в качестве окислительно-восстановительных систем, служащих посредниками в передаче электрона. Гидроксидрадикал необходим для синтеза ряда биологических регуляторов (например, простагландинов). Радикалы оксида азота (NO) участвуют в регуляции сокращения стенок кровеносных сосудов, а пероксинитрит стимулирует запрограммированную клеточную гибель (апоптоз). Свободные радикалы участвуют в формировании клеточного иммунитета. Образование гидроперекисей жирнокислотных цепей повреждает бислой и способствует высвобождению жирных кислот из состава мембранных липидов. Полиненасыщенная арахидоновая кислота является обычной мишенью для свободнорадикальной атаки. Этот процесс может стимулировать ферментативные превращения ее по одному из двух путей – липоксигеназному или циклооксигеназному. В результате в клетке образуются важные биологические регуляторы: простагландины, лейкотриены, тромбоксаны.

Однако при изменении условий функционирования дыхательной цепи, при воздействиях ионизирующего излучения, ультрафиолетового облучения, попавших в организм посторонних соединений, ксенобиотиков, при взаимодействии кислорода с ионами металлов и т.д. в организме образуются весьма активные молекулярные соединения: перекись водорода, гипохлорит и гидроперекиси липидов. Они являются сильными окислите-

лями, способными модифицировать белки, нуклеиновые кислоты, индуцировать ПОЛ и в результате цепных реакций приводить к множественным нарушениям мембран и к гибели клеток. Именно эти процессы приводят к развитию патологических состояний и лежат в основе канцерогенеза, атеросклероза, хронических воспалений и нервных дегенеративных болезней.

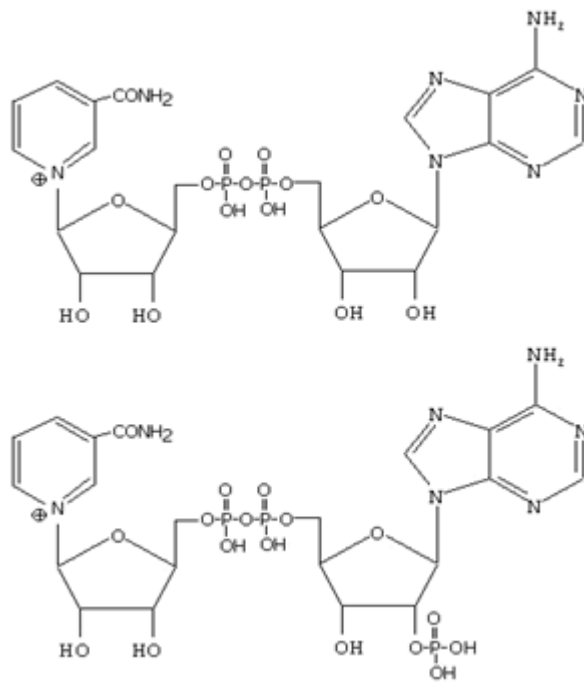
Для защиты от повреждающего действия радикалов в организме функционируют антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидазы) и низкомолекулярные антиоксиданты (витамин С, глутатион, мочевая кислота и др.). Кроме этого, антиоксидантными свойствами обладают полифенолы (например, аналоги некоторых компонентов красного вина). Это своеобразные ловушки, или перехватчики свободных радикалов.

1.4. Роль оксидоредуктаз в системе внутриклеточного обмена

Все внутриклеточные реакции органических веществ, процессы анаболизма и катаболизма тесно интегрированы в систему метаболизма. Регуляторные особенности метаболической системы проявляются в ее способности координировано изменять значения субстратных потоков и концентрацию интермедиатов в изменяющихся условиях так, чтобы в клетке поддерживалось стационарное состояние ключевых метаболитов и основных физиологических характеристик.

К наиболее информативным показателям внутриклеточного метаболизма относятся оксидоредуктазы. Это связано с тем, что основными переносчиками электронов в клетке являются пиридиновые нуклеотиды, а отсюда – активное участие оксидоредуктаз в биоэнергетических процессах. Кроме того, оксидоредуктазы, участвуя в направленной координации сопряженных метаболических потоков, в значительной степени обуславливают адаптивные изменения внутриклеточного обмена веществ.

К классу оксидоредуктаз относят ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Подклассы оксидоредуктаз определяются типами соединений, которые выступают в качестве доноров электронов. Так, оксидоредуктазы катализируют окисление гидроксигрупп (подкласс 1), карбонильных групп (подкласс 2) и т.д. В рамках подклассов оксидоредуктаз выделяют подподклассы, которые характеризуются типами соединений, определяемых в качестве акцепторов электронов. Например, к подподклассу 1 относят ферменты, катализирующие реакции окисления-восстановления с участием никотинамиддинуклеотида (НАД) или близкого аналога, у которого 2'-гидроксигруппа аденилатного фрагмента фосфорилирована – никотинамиддинуклеотидфосфат (НАДФ) (рис. 1.14). Данный подподкласс оксидоредуктаз называется дегидрогеназами.



a

б

Рис. 1.14. Структура никотинамиддинуклеотида (*a*) и никотинамиддинуклеотидфосфата (*б*).

Восстановленные дегидрогеназами никотинамидные коферменты отличаются от окисленных форм по производной никотиновой кислоты (рис. 1.15).

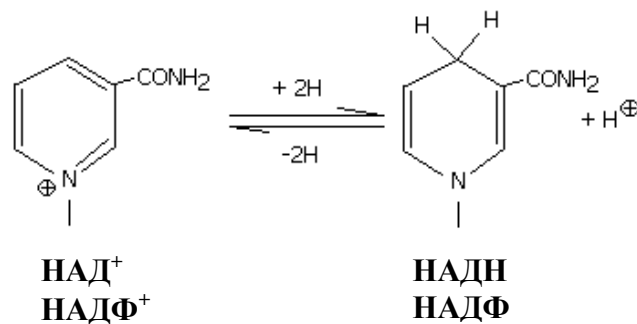


Рис. 1.15. Восстановление никотинамиддинуклеотида и никотинамиддинуклеотидфосфата.

Дегидрогеназами также называют ферменты, которые в своих реакциях используют флавиновые кофакторы: флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавинмононуклеотид (ФМН) (рис. 1.16). При этом некоторыми

авторами выделяется следующая закономерность: если биологически значимо окисление органического субстрата, то в реакции чаще всего участвует НАД⁺, если же реакция этого подподкласса имеет значение для восстановления какого-либо органического соединения, то чаще всего восстановитель – НАДФН.

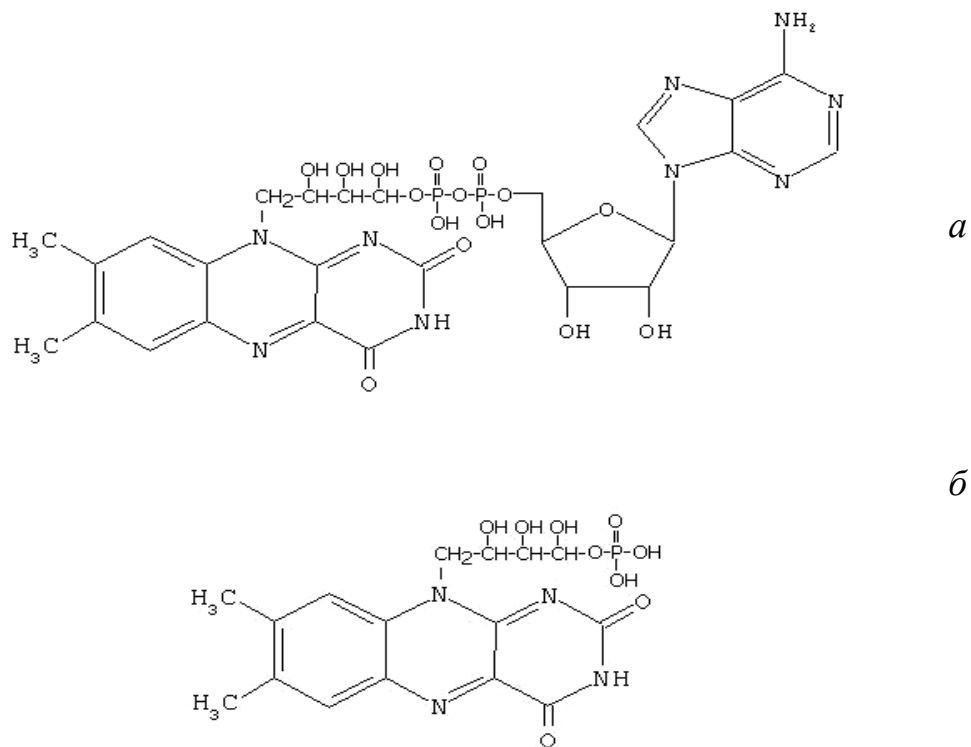


Рис. 1.16. Структура флавинадениндинуклеотида (а) и флавинмононуклеотида (б).

Биохимические реакции в клетке организованы в систему метаболических процессов. Причем, метаболические процессы представляют собой как циклы, в которых процесс начинается с участием интермедиата, регенерируемого в последней реакции цикла, так и цепи, не приводящие к образованию какого-либо исходного компонента.

Интеграция путей и циклов в систему метаболизма определяется:

- 1 – наличием общих промежуточных интермедиатов в большей части метаболических путей;
- 2 – возможностью взаимопревращений через общие метаболиты;
- 3 – использованием общих коферментов и необходимостью их постоянной циркуляции;
- 4 – наличием общего пути катаболизма и единой системы освобождения и использования энергии (дыхательная цепь);
- 5 – наличием сходных механизмов регуляции.

В клетках контроль за этапами метаболизма осуществляется путем разделения метаболических процессов по отдельным компартментам. На рис. 1.17 представлена схема компартментализации внутриклеточных метаболических процессов, наиболее общие закономерности которой можно представить следующим образом:

1. Метаболические взаимопревращения и биологический синтез преимущественно осуществляются в цитоплазме. НАДФН, необходимый для реакций восстановления, образуется также в цитоплазме в пентозофосфатном цикле.
2. Окислительные реакции, связанные с дыханием, протекают в митохондриях. В качестве коферментов обычно используются НАД⁺ и флавопротеины.

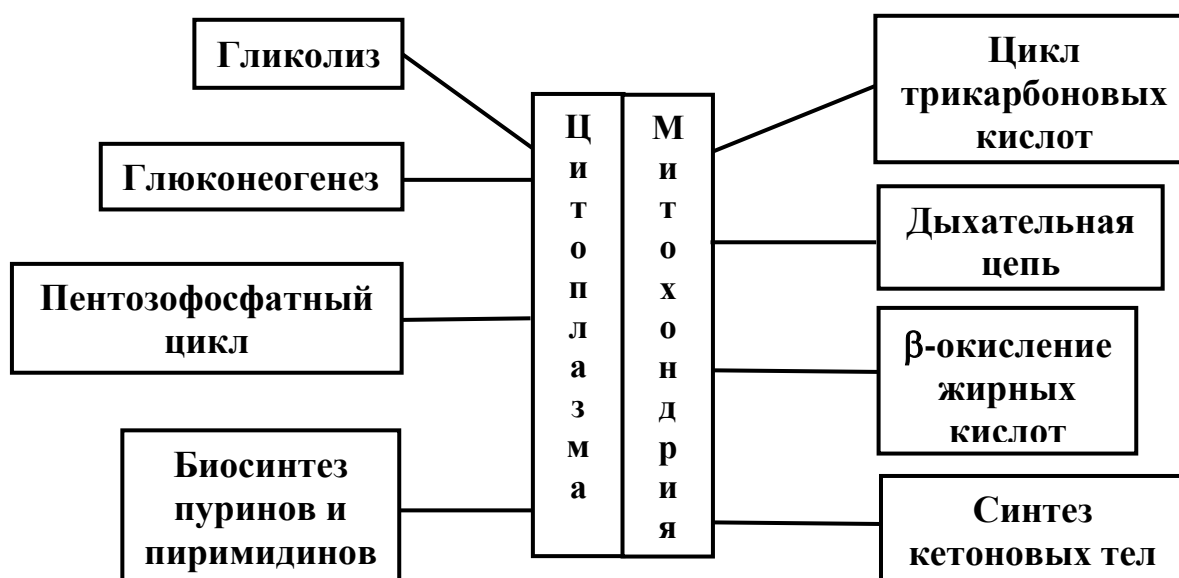


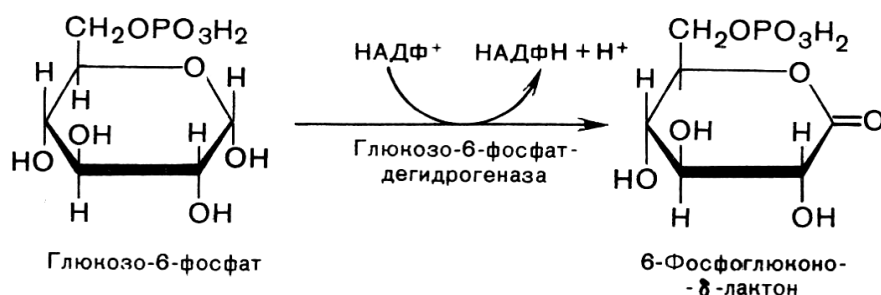
Рис. 1.17. Компартментализация основных внутриклеточных процессов.

Кроме того, в настоящее время констатируется, что ферменты, функционально объединенные в едином метаболическом пути, способны образовывать упорядоченные мультиферментные ансамбли, называемые метаболонами. Характерными чертами метаболонов являются их тесная ассоциация с субклеточными структурами, а также высокая степень лабильности, что препятствует их обнаружению и выделению. Биохимическая значимость метаболона определяется в повышении общей скорости метаболического процесса в связи с уменьшением времени диффузии метаболических интермедиатов к активным центрам ферментов, в компартментализации процесса, препятствующей нежелательному вовлечению субстратов

в другие метаболические пути или циклы, а также в возможности управления метаболическим процессом как единым целым.

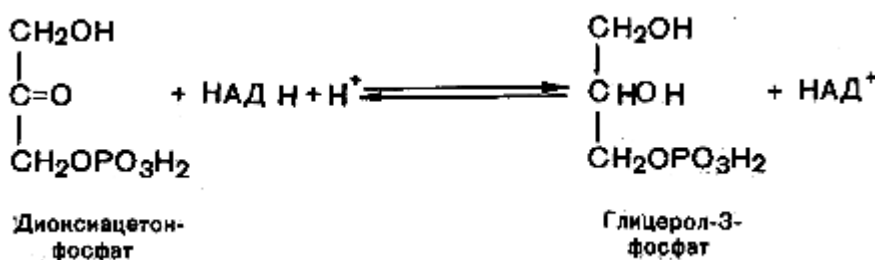
Однако ключевую роль в регуляции интенсивности субстратных потоков по метаболическим путям и циклам определяют именно ферменты. В связи с этим мы рассмотрим химизм ферментативных реакций и метаболическое значение ряда оксидоредуктаз, активность которых исследуется нами в лимфоцитах крови.

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) осуществляет дегидрирование глюкозо-6-фосфата и кофермента НАДФ. Образовавшийся в ходе данной реакции 6-фосфоглюконо-δ-лактон является нестабильным и гидролизуется либо спонтанно либо с помощью фермента 6-фосфоглюконолактоназы с образованием 6-фосфоглюконата.



Г6ФДГ катализирует инициализирующую и ключевую реакцию пентозофосфатного цикла. В норме доля пентозофосфатного цикла в количественном превращении глюкозы обычно невелика и варьирует в зависимости от типа ткани и функционального состояния клеток. У человека активность пентозофосфатного цикла относительно высока в печени, надпочечниках, эмбриональной ткани, активированных иммунокомпетентных клетках и молочной железе в период лактации. Пентозофосфатный цикл имеет важное значение для системы внутриклеточного метаболизма. Онставляет восстановленные НАДФН для реакций биосинтеза жирных кислот, холестерина и др. За счет пентозофосфатного цикла приблизительно на 50 % покрывается потребность клеток в НАДФН. Кроме того, продуктами пентозофосфатного цикла являются также различные пентозофосфаты, которые необходимы для реакций синтеза нуклеиновых кислот и ряда коферментов.

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (ГЗФДГ, КФ 1.1.1.8) – НАД-зависимая оксидоредуктаза, осуществляющая обратимое окисление глицеро-3-фосфата в диоксиацетонфосфат. Фермент занимает центральное положение в реакциях липидного обмена. В реакциях синтеза липидов



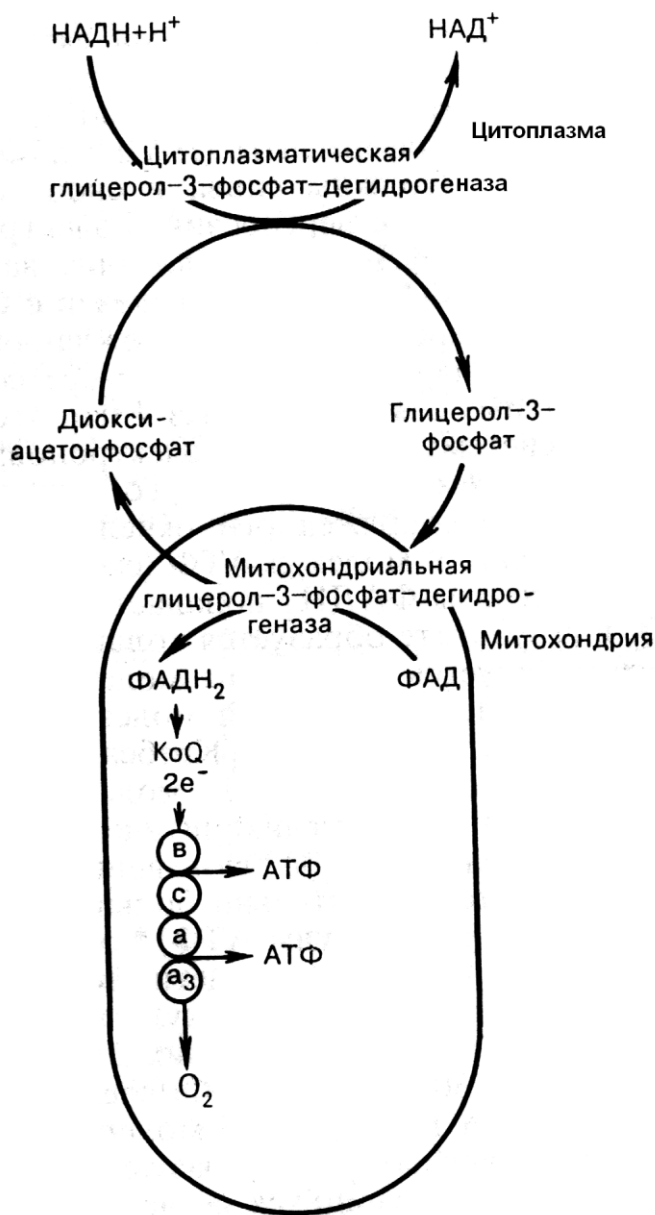


Рис. 1.18. Механизм α -глицерофосфатного водородного шунта.

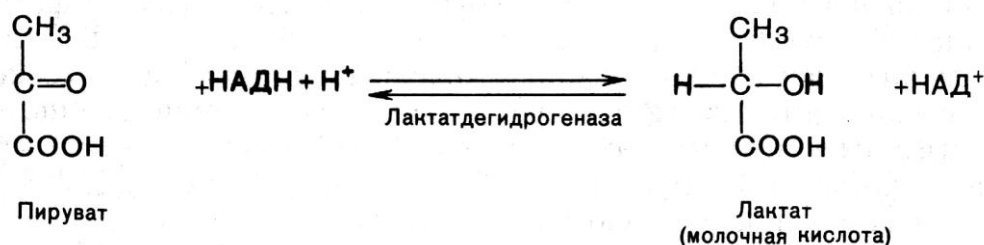
катализируется НАД-зависимой цитоплазматической ГЗФДГ. Образовавшийся глицерол-3-фосфат легко проникает через митохондриальную мембрану. Внутри митохондрии другая (митохондриальная ФАД-зависимая) ГЗФДГ окисляет глицерол-3-фосфат до диоксиацетонфосфата. ФАДН₂ вводит приобретенные им электроны на уровне коэнзима Q в систему дыхательной цепи, а диоксиацетонфосфат выходит из митохондрий в цитоплазму, где снова взаимодействует с НАД-зависимой ГЗФДГ. Наибольшая

ГЗФДГ осуществляет образование глицерол-3-фосфата из диоксиацетонфосфата, в то время как последний генерируется в реакциях гликолиза и глюконеогенеза. В то же время, образовавшийся в реакциях липидного катаболизма, глицерол-3-фосфат переводится на реакции анаэробного окисления глюкозы с помощью ГЗФДГ. На примере некоторых тканей доказана возможность образования комплекса ГЗФДГ с альдолазой. Причем установлено, что альдолаза связывается только с активным димером дегидрогеназы, увеличивая при этом активность фермента.

Синтезированный в цитоплазме НАДН не способен сам проникать через митохондриальную мембрану. Однако электроны НАДН способны включаться в дыхательную цепь с помощью α -глицерофосфатного водородного шунта (рис. 1.18). Цитоплазматический НАДН сначала реагирует с диоксиацетонфосфатом, образуя глицерол-3-фосфат. Реакция

значимость системы α -глицеро фосфатного шунта выявляется в метаболизме скелетных мышц и клетках мозга.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) фермент гликолитического цикла, обратимо катализирующий окисление лактата в пировиноградную кислоту с участием в качестве кофермента НАД. В варьирующих количествах ЛДГ содержится во всех органах и тканях организма; наибольшая ее активность отмечается в гладкой и поперечнополосатой мускулатуре, печени, почках и форменных элементах крови. Установлено существование 5 изоферментов ЛДГ, различающихся по сочетанию составляющих ее полипептидных цепей; для разделения изоферментов обычно пользуются электрофорезом на ацетатцеллюлозных пленках. Каждый изофермент представляет собой тетрамер, состоящий из субъединиц двух типов. За их синтез отвечают разные гены, уровень активности которых различен в разных тканях. Именно за счет изоферментного спектра и осуществляется контроль за интенсивностью субстратного потока по гликолизу. В тканях с аэробным метаболизмом преобладают изоферменты ЛДГ, которые чувствительны к пирувату. Данные изоферменты ЛДГ ингибируются даже небольшим количеством пирувата, что препятствует образованию лактата и приводит к более полному окислению пирувата через образование ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот. В тканях с преимущественно анаэробным дыханием выявляется изоферментный спектр ЛДГ, который не ингибируется пируватом (во всяком случае, в низких концентрациях).



ЛДГ занимает ключевое положение в регуляции цитоплазматического уровня НАДН/НАД. В случае избытка НАДН в цитоплазме ЛДГ восстанавливает пируват до лактата, который затем удаляется из клетки (анаэробная реакция ЛДГ). В то же время, при активации аэробных процессов ЛДГ может окислять лактат до пирувата с образованием НАДН (аэробная реакция ЛДГ). В этом случае пируват, образовавшийся при окислении лактата, в основном через пируватдегидрогеназный комплекс поступает на реакции цикла трикарбоновых кислот (митохондриальный компартмент).

Малатдегидрогеназа (МДГ, КФ 1.1.1.37) – фермент, катализирующий обратимое окисление малата в оксалоацетат. Фермент локализуется как в митохондриях (цикл трикарбоновых кислот), так и в цитоплазме. В митохондриях уровень соотношения НАДН/НАД относительно велик, в

результате чего внутримитохондриальным оксалоацетат легко восстанавливается в малат, который легко выходит из митохондрий. В цитоплазме уровень отношения НАДН/НАД мал, что приводит к окислению малата при участии цитоплазматической НАД-зависимой МДГ.



МДГ принимает участие в реакциях азотного обмена. Одним из ключевых интермедиатов азотного обмена является аспартат, который синтезируется в результате трех сопряженных реакций. В ходе первой реакции фумарат под действием фумаразы присоединяет воду и превращается в малат. Во второй реакции малат под действием МДГ окисляется до оксалоацетата, который в третьей реакции – в реакции трансаминирования с глутаматом преобразуется в аспартат. Кроме того, МДГ принимает самое активное участие в работе малат-аспартатного водородного шунта митохондрий (рис. 1.19).

Данная система функционирует благодаря наличию МДГ и аспартаминотрансферазы как в цитоплазме, так и в митохондриях. Водородный шунт работает следующим образом. Сначала водород от синтезированного в цитоплазме НАДН переносится на цитоплазматический оксалоацетат. В результате образуется малат, который с помощью системы, транспортирующей дикарбоновые кислоты, проходит через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс. В матриксе митохондрий с помощью МДГ малат окисляется в оксалоацетат, а матриксный НАД⁺ восстанавливается до НАДН, который может передавать свои электроны в дыхательную цепь, локализованную на внутренней мембране митохондрий. В свою очередь, образовавшийся оксалоацетат в присутствии глутамата и аспартаминотрансферазы вступает в реакцию трансаминирования. Образовавшиеся в результате данной реакции α-кетоглутарат и аспартат с помощью специальных транспортных систем способны проходить через мембрану митохондрий.

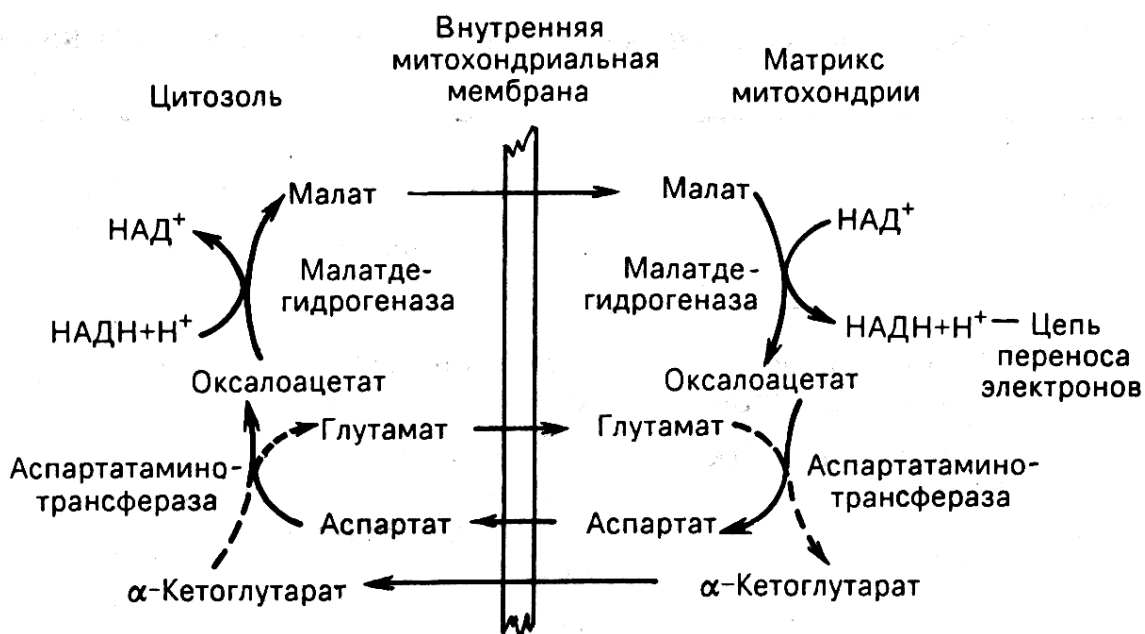
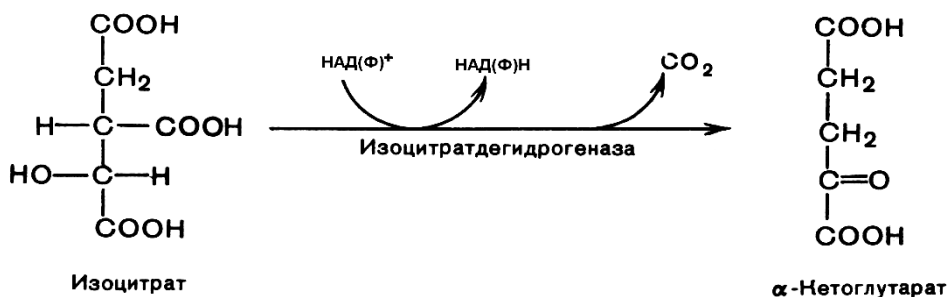


Рис. 1.19. Схема малат-аспаратного водородного шунта митохондрий.

В митохондриях существует два типа **изоцитратдегидрогеназ**. НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАДИЦДГ, КФ 1.1.1.41) выявляется только в митохондриальном компартменте, в то время как НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАДФИЦДГ, КФ 1.1.1.42) выявляется как в митохондриях, так и в цитоплазме. НАДИЦДГ осуществляет третью реакцию в цикле трикарбоновых кислот, которая, по-видимому, является лимитирующей. В ходе изоцитратдегидрогеназной реакции также осуществляется декарбоксилирование изолимонной кислоты. Специфическим активатором НАДИЦДГ является АДФ, ингибиторами фермента являются АТФ и НАДН. Кроме того, изоцитратдегидрогеназе для осуществления ферментативной активности необходимы ионы магния и марганца.



Одним из наиболее важных ферментов цикла трикарбоновых кислот является **сукцинатдегидрогеназа** (СДГ, КФ 1.3.99.1), активность которой

оказывает существенное влияние на интенсивность субстратного потока по лимонному циклу. СДГ катализирует шестую реакцию цикла Кребса, в которой сукцинат дегидрируется в фумаровую кислоту. Кофактором СДГ является ФАД, ковалентно связанный с молекулой фермента. При этом, сама



СДГ прочно связана с внутренней мембраной митохондрий. Восстановленный ФАДН₂ передает электроны непосредственно на дыхательную цепь через КоQ. Установлено, что аллостерическим ингибитором СДГ является оксалоацетат.

Глутаматдегидрогеназа осуществляет окислительное дезаминирование L-глутаминовой кислоты. В качестве кофермента глутаматдегидрогеназа использует НАД (НАДГДГ, КФ 1.4.1.2) или НАДФ (НАДФГДГ, КФ 1.4.1.4). Реакция включает анаэробную фазу дегидрирования глутаминовой кислоты с образованием промежуточного продукта – иминоглутаровой кислоты, после чего осуществляется спонтанный гидролиз с образованием аммиака и α-кетоглутаровой кислоты (рис. 1.20).

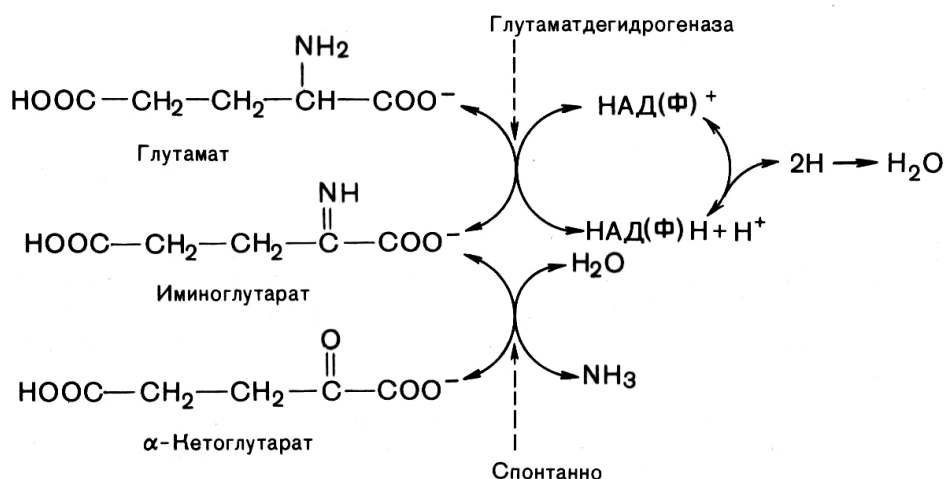


Рис. 1.20. Ферментативная реакция глутаматдегидрогеназы.

Ферментативные реакции глутаматдегидрогеназ являются обратимыми, соответственно аммиак в присутствии НАД(Ф)Н и α -кетоглутаровой кислоты может участвовать в синтезе глутамата. Глутаматдегидрогеназа представляет собой один из наиболее изученных ферментов азотистого метаболизма. Глутаматдегидрогеназа является олигомерным ферментом с молекулярной массой 312000, который состоит из 6 субъединиц. Фермент проявляет свою активность только в мультимерной форме. При диссоциации глутаматдегидрогеназы на субъединицы, которая происходит в присутствии НАДН, ГТФ и ряда стероидных гормонов, фермент теряет способность осуществлять окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты, но приобретает способность осуществлять дезаминирование ряда других аминокислот. Подобная особенность характеризует аллостерический механизм регуляции глутаматдегидрогеназы и определяет данный фермент как регуляторный в системе аминокислотного обмена.

Таким образом, НАД(Ф)- и ФАД-зависимые дегидрогеназы находятся на ключевых позициях внутриклеточного метаболизма. Представленные дегидрогеназы локализуются в различных компартментах клетки и вовлечены в функционирование разных метаболонов. Их активность определяет как ряд основных пластических процессов (синтез аминокислот, нуклеотидов, липидов и т.д.), так анаэробные и аэробные дыхательные реакции.

Глава 2. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКТИВНОСТИ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

2.1. Метаболизм в лимфоцитах в процессе их функционирования в норме и при патологии

На сегодняшний день не вызывает сомнений, что в основе функциональных проявлений лимфоцитов лежат их метаболические реакции. Уже через несколько секунд после контакта лимфоцита с антигеном или митогеном в клеточной мембране наступает ряд изменений. Активируется Na^+ , K^+ -АТФаза, накачивающая ионы K^+ в клетку, а ионы Na^+ – из клетки против градиентов их концентраций [Chiampanichayakul S. et al., 2002; Scaroni S. et al., 2007; Kovaru H. et al., 2010; Toldi G. et al., 2012]. Повышается активность мембранных метилтрансфераз. Возрастает поток Ca^{2+} внутрь клетки, который является необходимым условием для осуществления процессов, приводящих к увеличению активности гуанилатциклазы и ингибированию аденилатциклазы [Хайдуков С.В., Литвинов И.С., 2005; Зинченко В.П. и др., 2009; Passani S.R. et al., 2008; Ahmed A. et al., 2009; Toldi G. et al., 2012].

Апоптоз лимфоцитов играет важную роль в адекватной реализации иммунного ответа [Кетлинский С.А., 2012; Новицкий В.В. и др., 2012; Chen W., Lin J., 2011; Wolf K. et al., 2011; Niedźwiedzka-Rystwej P., Deptuła W., 2012]. Основные молекулярные механизмы апоптоза на сегодняшний день уже определены [Ельчанинов А.В., Большакова Г.Б., 2012; Таширева Л.А. и др., 2012; Hardwick J.M. et al., 2012; Lencesova L., Krizanova O., 2012; Scatena R., 2012]. Существенные успехи достигнуты в понимании структуры и функционирования Fas-рецептора и связанных с ним молекул, факторов, контролирующих апоптоз (Bcl-2, Вах и т. д.), и сериновых протеаз (каспаз). Одну из ключевых ролей в развитии апоптоза клеток осуществляют эндонуклеазы. Активация эндонуклеазы сопровождается фрагментацией ДНК. Само по себе это уже неизбежно обеспечивает гибель

клетки. Установлено, что активация эндонуклеазы и гибель тимоцитов на раннем этапе зависят от значительного повышения в цитозоле концентрации Ca^{2+} , наибольшее количество которого имело внеклеточное происхождение. Утверждается, что для лимфоидных клеток характерен Ca^{2+} -зависимый путь апоптоза, а увеличение кальция – это фактор, провоцирующий апоптоз в тимоцитах и лимфоцитах [Green D.R., Scott D.W., 1994; Beaver J.P., Waring P., 1995; Oshimi Y., Miyazaki S., 1995]. Установлено, что в апоптотирующих клетках периферической крови, в том числе в Т-лимфоцитах, определяются, как правило, эндонуклеазы, активируемые ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} . Ядра тимоцитов содержат значительные количества Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазы, как полагают, этот фермент активируется глюкокортикоидом. В апоптотирующих лимфоцитах периферической крови здоровых доноров выявлена ДНКаза, активируемая ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} . Лимфоциты больных бронхиальной астмой содержат ДНКазы, активность которых изменяется в зависимости от тяжести заболевания [Абрамова З.И. и др., 2006]. В клетках больных возрастает активность Mn^{2+} -зависимой ДНКазы и подавляется активность Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой ДНКазы. Учитывая роль Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой ДНКазы в апоптозе клеток, можно выдвинуть предположение о взаимосвязи торможения апоптоза лимфоцитов больных бронхиальной астмой с нарушением индукции «апоптотической» Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой нуклеазы.

С первых минут реакции бласттрансформации в лимфоцитах увеличивается потребление АТФ [Fu Y. et al., 2011; Vyas S., Roberti I., 2011; Zhou H. et al., 2011]. Снижение концентрации АТФ в течение первого часа после воздействия митогена объясняется стимуляцией АТФаз ионных насосов, активацией ферментов путем фосфорилирования, синтезом ростовых факторов и рецепторов к ним. Кроме того, при распознавании эффектором клетки-мишени осуществляется локальный выброс АТФ в межклеточную щель, образующуюся в зоне контакта взаимодействующих клеток. Через 1–2 ч активируется митохондриальное дыхание лимфоцитов, что позволяет клеткам перейти на более высокий энергетический уровень, и синтез АТФ начинает преобладать над его потреблением [Bleackley R.C., 2005; Campello S. et al., 2006; McLeod I.X. et al., 2012]. Этот этап совпадает по времени с переходом активированных митогеном клеток в G-, а затем в S-фазу клеточного цикла.

Активация энергетического обмена во время реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБЛ) проявляется не только в ускорении обмена АТФ, но и в увеличении синтеза пиримидиннуклеотидов. В результате этого наблюдается значительное повышение внутриклеточного уровня НАД (в 6 – 11 раз) и НАДФ (в 10 – 21 раз) [Matheny H.E. et al., 2000; Bortell R. et al., 2001]. НАД является субстратом в реакциях АДФ-рибозилирования, ведущих к образованию АДФ-рибозы и ее гомополимера поли-АДФ-рибозы. Последний, присоединяясь к акцепторным ядерным белкам (например, к

гистонам), в значительной степени определяет интактность структуры ДНК и хроматина. НАД в качестве обязательного компонента ДНК-лигазной реакции участвует и в процессах репарации ДНК [Чаусов В.Н. и др., 2009]. Таким образом, активация синтеза пиридиновых нуклеотидов в активированных лимфоцитах необходима не только для поддержания оксидоредуктазных реакций, но и для синтеза ДНК и репарационных реакций, что делает этот процесс необходимым условием для осуществления РБЛ.

Высокую значимость в поддержании функциональной активности клеток иммунной системы имеют глутатион и ферменты глутатионового метаболизма [Dong W. et al., 2010; Fisher G. et al., 2011; Shah D. et al., 2011]. Обнаружено, что глутатион может непосредственно модулировать пролиферацию Т-лимфоцитов. Лимфоциты, истощенные по глутатиону, не развивали в полной мере РБЛ на митогенные лектины. Экзогенный глутатион частично поддерживает уровень внутриклеточного глутатиона и полностью восстанавливает пролиферацию, а эндогенный играет ключевую роль в метаболических реакциях, связанных с синтезом ДНК, и, кроме того, опосредует эффекты экзогенных тиолов [Hadzic T. et al., 2005; Dobis D.R. et al., 2008; Named Y.V. et al., 2012]. Метаболическую роль глутатиона и ферментов глутатионового обмена также связывают с антиоксидантными процессами [Oldenburg J. et al., 2007; Lee S.H. et al., 2010]. Предполагается, что синтез и восстановление глутатиона через глутатионредуктазу обеспечивают полноценные эффекторные функции естественных киллеров, направленные на элиминацию инфицированных вирусом гепатоцитов, и низкая активность ферментов биотрансформации ксенобиотиков приводит к изменению иммунного гомеостаза через образование реактивных метаболитов ксенобиотиков с последующим их ковалентным связыванием с макромолекулами клеток и образованием «конъюгированных антигенов».

Наряду с изменением в антиген- или митоген-стимулированных лимфоцитах интенсивности ионного транспорта, синтеза макроэргов и нуклеотидов, а также уровня дыхания не остается постоянной и активность ферментов. Так, при стимуляции лимфоцитов человека ФГА активность кислой фосфатазы увеличивается уже через час после воздействия. Через 3 дня уровень фермента нормализуется. При определении активности РНКазы и ДНКазы в селезенке, тимусе и лимфатических узлах иммунизированных экспериментальных животных найден уровень ферментов, который в селезенке уменьшается через 12 ч после иммунизации и через 4 – 6 дней приходит в норму. В тимусе и лимфатических узлах он быстро возрастает, а по истечении 5 – 6 дней возвращается к исходному уровню. Изменение ферментативной активности предшествовало образованию антителообразующих клеток [Робинсон М.В. и др., 1986; Уразова О.И. и др., 2001].

Особенно высокой информативностью для исследования метаболизма активированных лимфоцитов обладают окислительно-

восстановительные ферменты. Это связано с тем, что, являясь основными переносчиками электронов в клетке, они осуществляют ключевые реакции клеточного метаболизма и координируют сопряженные метаболические пути [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; McLain A.L. et al., 2011; Li M. et al., 2012; McAlister-Henn L., 2012; Spanaki C., Plaitakis A., 2012; Stanton R.C., 2012]. Обнаружено, что около 20 % сукцинатдегидрогеназы (СДГ) находится в ядре тимоцитов и спленоцитов, из них 10 % связано с ядерной мембраной. Доказывается, что СДГ в клеточных ядрах может участвовать в выработке свободной энергии, необходимой для дифференцировки и пролиферации [De Halac I.N. et al., 2000; Gryazeva N.I. et al., 2001; Rutter J. et al., 2010].

Значимость изменений уровней активности оксидоредуктаз для реализации эффекторных функций лимфоцитов подтверждается исследованиями метаболизма иммунных клеток при иммунопатологических состояниях. Так, установлено, что у людей с врожденной ферментопатией по глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе (Г6ФДГ) скорость реакции РБЛ значительно замедляется [Рагимов А.А., Байрамалибейли И.Э., 1985]. Обнаружена прямая зависимость между геногеографией наследственного дефицита Г6ФДГ и распространенностью туберкулеза легких [Инсанов А.Б. и др., 1993]. Обследование пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека, показало снижение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДФ-оксидазы и малатдегидрогеназы в лимфоцитах крови, а также увеличение уровня СДГ и Г6ФДГ [Пастушенков В.Л. и др., 1990; Митин Ю.А. и др., 1992]. Предполагается, что вторичное иммунодефицитное состояние, развивающееся у больных вирусным гепатитом В, характеризуется не только и не столько снижением количества Т-клеток и нарушением соотношения их субпопуляций, сколько функциональной несостоятельностью лимфоцитов. При этом обнаружено изменение метаболических показателей лимфоцитов: снижение активности СДГ, кислой и щелочной фосфатаз, цитохромоксидазы. У всех больных снижено содержание АТФ в нейтрофилах, а у 24 % – в лимфоцитах. При проведении сравнительного анализа метаболических показателей лимфоцитов периферической крови у больных острыми вирусными гепатитами А и В обнаружено, что спад уровня реактивности клеток иммунной системы определяется тремя основными причинами: 1 – за счет уменьшения активности оксидоредуктаз, определяющих интенсивность энергетических реакций в клетках; 2 – понижением уровня ключевой реакции пентозофосфатного цикла и в связи с этим возможным ингибированием рибозо-5-фосфат- и НАДФН-зависимых пластических процессов; 3 – снижением уровня реакций восстановления глутатиона. При этом более выраженные нарушения метаболизма лимфоцитов установлены у больных вирусным гепатитом А [Змызгова А.В., 1992]. Установлено, что при развитии метастазов рака шейки матки происходит снижение активности дегидрогеназ цикла Кребса и гликолиза в лимфоцитах циркулирующе-

го пула по сравнению с показателями у больных без метастазов. Проведение антиметастатической химиотерапии увеличивает активность сукцинатдегидрогеназы и продуктивность цикла Кребса [Калабанова Е.А. и др., 2011].

Значимость состояния метаболизма в лимфоцитах крови при иммунопатологических состояниях подтверждается исследованием данных показателей у больных истинной аллергией и псевдоаллергией [Савченко А.А., Смирнова С.В., 2001; Савченко А.А. и др., 2002]. Так, при исследовании уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ и концентрации ключевых интермедиатов в лимфоцитах крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией обнаружено увеличение интенсивности реакций, определяющих функции пентозофосфатного цикла, гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Однако увеличение активности ферментов, отражающих интенсивность анаэробного и аэробного дыхания иммунокомпетентных клеток у больных истинной аллергией выше, чем у лиц с псевдоаллергией, что подтверждается повышенной концентрацией пирувата и малата у первых по сравнению со вторыми. Тем не менее установлено, что у больных истинной аллергией и псевдоаллергией в иммунокомпетентных клетках снижается концентрация АТФ. С помощью нейросетевого предиктора установлено, что в обеих группах обследуемых внутриклеточная концентрация АТФ определяется, прежде всего, интенсивностью реакций цикла трикарбоновых кислот. Однако различия в нейропредикторных взаимосвязях состоят в том, что если у больных истинной аллергией уровень АТФ в лимфоцитах крови определяется НАД-зависимыми дегидрогеназами лимонного цикла, то у лиц с псевдоаллергией – вспомогательными и шунтирующими реакциями. По-видимому, снижение концентрации макроэрга в лимфоцитах крови больных истинной аллергией и псевдоаллергией определяется недостаточной сбалансированностью энергетических и пластических процессов. Следовательно, особенности метаболизма иммунокомпетентных клеток определяются дуализмом их активации при истинной аллергии (аллерген и медиаторы аллергии) и монизмом при псевдоаллергии (только медиаторы аллергии).

Врожденный дефицит некоторых ферментов пуринового обмена (аденозиндезаминазы, пурипнуклеозидфосфорилазы и 5'-нуклеотидазы) проявляется в виде первичного комбинированного иммунодефицита, поражающего не только Т-, но и В-лимфоциты. Лимфоциты больных не поддаются стимуляции митогенами или антигенами *in vitro*. У детей при данном поражении наблюдаются рецидивирующие бактериальные, вирусные и грибковые инфекции. Кроме того, доказано, что в основе патогенеза такого заболевания, как грибковидный микоз, лежат нарушения метаболизма пуриновых нуклеозидов и нуклеотидов и изменение активности ключевых ферментов пуринового обмена (прежде всего, аденозиндезаминазы и пурипнуклеозидфосфорилазы). Отмечается, что высокая активность адено-

зиндезаминазы характерна для наименее зрелых Т-лимфоцитов, в субпопуляциях которых фермент осуществляет ключевые реакции метаболизма в ходе нормальной дифференцировки клеток. В то же время активность пурипнуклеозидфосфорилазы возрастает по мере дифференцировки Т-лимфоцитов. Следовательно, наиболее зрелые Т-клетки характеризуются высоким уровнем данного фермента. На начальной стадии пойкилодермической формы грибовидного микоза активность аденозиндезаминазы и пурипнуклеозидфосфорилазы не отличалась от нормы, тогда как на терминальных стадиях заболевания и при эритродермической форме их активность повышалась в 10 раз по сравнению с нормой.

Нами выявлено, что у рабочих, длительное время контактирующих с химическими и радиоактивными веществами, обнаруживаются значительные изменения иммунологических показателей и активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов. Контакт с радиоактивными веществами приводит к увеличению в лимфоцитах крови уровней ферментов синтетических процессов и антиоксидантной защиты, что сопровождается активацией клеточного иммунитета. У лиц, работающих на производстве с вредными химическими веществами, выявляются повышение анаэробных процессов в иммунокомпетентных клетках, соответствующее снижение активности клеточного иммунитета и увеличение гуморальных факторов.

В связи с высокой значимостью метаболических процессов в проявлении функциональной активности клеток иммунной системы представляется интересным применение методов метаболической коррекции для компенсации иммунодефицитных состояний. Так, при использовании нуклеината натрия и спленина у больных вирусными гепатитами А и В обнаружен четко выраженный иммунокорректирующий эффект, проявляющийся ликвидацией дефицита Т-клеток с фенотипами $CD3^+$ и $CD4^+$, нормализацией субпопуляционного соотношения, снижением уровня ЦИК, повышением концентрации IgA и М при исходно низком уровне. К моменту выписки восстановление физиологического уровня иммунологических показателей достигнуто у 77,8 % больных гепатитом А и 73,0 % – гепатитом В (при общепринятых методах лечения – соответственно 43,6 и 46,7 %). Затяжные формы при вирусном гепатите А после проведения метаболической иммунотерапии отмечены в 2,8 раза реже, рецидивы – в 3,2, а переход в хроническую форму – в 2,6 раза реже, чем в группе сравнения.

Таким образом, учитывая высокую информативность метаболических показателей для характеристики функционального состояния лимфоцитов, исследование метаболических параметров позволит улучшить диагностику иммунных нарушений, правильно выбрать тактику иммунокорректирующей терапии, оценить эффект действия различных иммуномодуляторов и разработать иммунореабилитационные мероприятия с учетом выявленных метаболических нарушений. Необходимо отметить, что метаболическая коррекция обменных процессов открывает новые и перспек-

тивные подходы к иммунотерапии и иммунореабилитации больных с нарушенной функцией иммунной системы.

2.2. Метаболизм гранулоцитов и макрофагов в состоянии относительного покоя и при фагоцитозе

Фагоцитарная система человека и животных представлена малоподвижными тканевыми мононуклеарными клетками (макрофаги) и циркулирующими нейтрофильными и мононуклеарными лейкоцитами (моноциты) [Козлов В.А. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010; Черешнев В.А., Шмагель К.В., 2011]. Адекватное число нормально функционирующих фагоцитов – важнейшее условие для успешной защиты организма от инфекций. Фагоцитирующие лейкоциты образуются из полипотентных стволовых клеток в костном мозге. Лейкоциты и эритроциты вырабатываются приблизительно в равных количествах, однако из-за более короткой продолжительности жизни лейкоцитов (часы, а не месяцы) обычное соотношение эритроцитов к лейкоцитам в периферической крови составляет 200:1. Нейтрофильные гранулоциты поступают в кровяное русло в виде высокодифференцированных зрелых фагоцитов, а моноциты – в виде незрелых клеток. Оба вида клеток циркулируют в крови в течение 4–10 ч, а затем мигрируют в ткани.

Мононуклеарные клетки превращаются в зрелые фагоциты (макрофаги) в тканях, причем их морфологические и метаболические характеристики зависят от того, в каких органах они задерживаются [Козлов В.А. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010; Черешнев В.А., Шмагель К.В., 2011]. Макрофаги присутствуют в селезенке, печени, легких, лимфатических узлах, кишечнике и центральной нервной системе. Циркулирующие мононуклеарные фагоциты также мигрируют в очаги воспаления обычно после их инфильтрации нейтрофилами; мононуклеарные фагоциты играют важную роль в создании вала вокруг инфекционного очага и формировании гранулем. Макрофаги – это основные фагоцитирующие клетки грудного молока.

Обширные запасы зрелых нейтрофилов в норме определяются в костном мозге (костномозговой пул) и удерживаются в пристеночном положении в сосудах (маргинальный пул). При воспалительном процессе происходят мобилизация этих запасов, быстрое размножение клеток-предшественников и ускоренная их дифференцировка; во время острых инфекций нейтрофильные лейкоциты вырабатываются в огромных количествах [Ярилин А.А., 2010; El Kebir D., Filep J.G., 2010; Wright H.L. et al., 2010; Phillipson M., Kubes P., 2011]. Выработка фагоцитирующих клеток костным мозгом, по-видимому, регулируется циркулирующими факторами, высвобождающимися из лейкоцитов периферической крови.

Основные морфологические особенности нейтрофильных гранулоцитов, позволяющие при их идентификации обходиться без использования дополнительных маркеров, состоят в сегментированном ядре с плотной упаковкой хроматина и наличии в цитоплазме нейтральных (что определило название клеток) гранул, содержащих бактерицидные субстанции и ферменты [Черешнев В.А., Шмагель К.В., 2011; Miguel A. et al., 2007; Oakes P.W. et al., 2009]. Нейтрофилы отличаются высокой подвижностью и отзываемостью на хемотаксические и активационные факторы. Именно это обеспечило им роль наиболее мобильных клеток, ранее всего вовлекаемых в воспалительные и иммунные процессы и обуславливающих пусковые механизмы развития воспаления и ранние защитные реакции.

Существует два типа гранул нейтрофильных гранулоцитов – первичные (азурофильные) и вторичные (специфические). Первые содержат большой набор гидролаз и других ферментов: α -фукозидазу, 5'-нуклеотидазу, β -галактозидазу, арилсульфатазу, α -маннозидазу, N-ацетилглюкозаминидазу, β -глюкуронидазу, кислую β -глицерофосфатазу, нейтральные протеиназы – катепсин G, эластазу, коллагеназу, катионные белки, миелопероксидазу, лизоцим (мурамилидаза), а также кислые гликозаминогликаны (мукополисахариды) [Ярилин А.А., 2010; Mariscalco M.M., 2011; Nordenfelt P., Tapper H., 2011; Uriarte S.M. et al., 2011]. Во вторичных гранулах кислые гидролазы отсутствуют и содержатся ферменты, проявляющие активность при нейтральных и щелочных значениях pH: лактоферрин, щелочная фосфатаза, лизоцим» а также белок, связывающий витамин B₁₂. Содержимое гранул способно облегчить разрушение практически любых микробов. Это достигается в процессе слияния гранул с фагосомами при фагоцитозе или дегрануляции, являющейся разновидностью секреторного процесса. Специфические гранулы быстрее сливаются с фагосомами и выбрасываются клеткой, чем азурофильные. После опорожнения гранул их восстановления не происходит.

Быстрота мобилизации нейтрофилов дополняется их способностью в течение секунд развивать метаболические процессы, приводящие к «кислородному взрыву», а также осуществлять выброс предсуществующих гранул, которые содержат бактерицидные субстанции (дегрануляция). В нейтрофилах обнаружены ферменты, причастные к бактериолизу и перевариванию микроорганизмов. Среди перечисленных выше ферментов этой способностью обладают кислые протеиназы, миелопероксидаза, лактоферрин, лизоцим и щелочная фосфатаза [Куртасова Л.М. и др., 2009; Davison G., Diment B.C., 2010; Papayannopoulos V. et al., 2010; Francis N. et al., 2011; Kubota K. et al., 2012; Prokopowicz Z. et al., 2012].

В основе проявлений функциональной активности макрофагов и нейтрофилов лежит активация, которая индуцируется внешними стимулами (как правило, воздействием экзогенных молекул на мембранные рецепторы клеток) и реализуется с помощью цепи внутриклеточных сигналов,

приводящих к изменению метаболических процессов и активности генов [Куртасова Л.М. и др., 2009; Плескова С.Н. и др., 2010; Chen G. et al., 2012; Mitchell M.J., King M.R., 2012; Pańcyszyn A., Wiczorek M., 2012; Sugama K. et al., 2012]. Механизмы активации нейтрофилов и макрофагов в общих чертах сходны, хотя имеются и определенные различия.

Активирующими стимулами для фагоцитов служат факторы, взаимодействующие с рецепторными структурами клеток [Куртасова Л.М. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010; Черешнев В.А., Шмагель К.В., 2011; Bonville S.A. et al., 2009; Berry M.P. et al., 2010]:

- бактериальные продукты, в частности липополисахариды;
- цитокины, среди которых в качестве активатора наиболее эффективен интерферон- γ (ИФН- γ);
- активированные компоненты комплемента, их фрагменты;
- тканевые полисахариды, в частности содержащие концевую маннозу;
- прилипание к различным поверхностям, происходящее с участием адгезивных молекул поверхности макрофагов, а также процесс фагоцитоза;
- любые другие факторы, вызывающие активацию протеинкиназы С и повышение содержания Ca^{2+} в клетке (в модельных опытах *in vitro* – сочетание фоболмиристатацетата и ионофоров кальция).

Процесс активации в ряде случаев разделяется на два этапа: праймирование и запуск. Праймирующими агентами могут служить ИФН- γ и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), которые облегчают проявление активации под действием пускового агента – липополисахарида [Uriarte S.M. et al., 2011; Lu Y.Z. et al., 2012; Reino D.C. et al., 2012]. На молекулярном уровне эффект праймирования трактуется как процесс, приводящий к активации протеинкиназы С (вследствие накопления 1,2-диацилглицерина) без мобилизации Ca^{2+} , т.е. как неполный сигнал. Последующее воздействие липополисахарида завершает формирование сигнала путем мобилизации Ca^{2+} с участием 1,4,5-инозитолтрифосфата – продукта расщепления фосфатидинозитол-4,5-дифосфата. Активация может осуществляться и одновременно вследствие одновременного прохождения обоих внутриклеточных процессов.

Основные проявления активации макрофагов следующие [Галкин А.А., Демидова В.С., 2009; Ярилин А.А., 2010; Курилова Л.С. и др., 2012; Gaba A. et al., 2012; Wang C.L. et al., 2012]:

- «кислородный взрыв», накопление свободных радикалов;
- генерация окиси азота;
- изменение активности ряда ферментов, не связанных с кислородным и азотным метаболизмом;
- усиление синтеза Ia-молекул (продуктов генов главного комплекса гистосовместимости (МНС) II класса) и их экспрессии;

- усиление синтеза и секреции цитокинов (интерлейкина-1 (ИЛ-1)), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и т.д.) и других биологически активных молекул;
- повышение фагоцитарной активности и эффективности фагоцитоза;
- увеличение противоопухолевой активности;
- повышение способности обрабатывать антиген и представлять его Т-лимфоцитам;
- проявление регуляторной активности при иммунном ответе.

Основная часть перечисленных проявлений наблюдается и при активации нейтрофилов. Это относится, в частности, к кислородному взрыву, некоторым изменениям метаболизма и повышению фагоцитарной активности [Куртасова Л.М. и др., 2009; Филина Ю.В. и др., 2011; Dias I.N. et al., 2011; Uriarte S.M. et al., 2011; Santa-Cecília F.V. et al., 2012].

Кислородный, или дыхательный, взрыв – это процесс образования продуктов частичного восстановления кислорода, свободных радикалов, перекисей и других продуктов, обладающих высокой антимикробной активностью (рис. 2.1). Образование этих метаболитов в своей основе имеет усиление потребления глюкозы и ее расщепление с участием НАДФ⁺ по механизму гексозомонофосфатного шунта, что сопровождается накоплением НАДФН. Взаимодействие НАДФН с молекулой кислорода в клеточной мембране при участии НАДФН-оксидазы приводит к генерации супероксид-аниона (O_2^-) [Куртасова Л.М. и др., 2009; Singh A. et al., 2009; Marcoux J. et al., 2010; Xiang M. et al., 2011].

НАДФН-зависимая оксидаза – это мультикомпонентная система, представляющая собой часть дыхательной цепи митохондрий и состоящая в исходном неактивном состоянии из флавопротеида и цитохрома b558. Компонентами НАДФН-оксидазы являются четыре белка, которые образуют фермент после того, как собираются вместе в клеточной мембране. Два из них – белки с молекулярными массами 91000 и 22000 – относятся к мембранным белкам и образуют гетеродимер цитохрома b558. Два других белка с молекулярными массами 47000 и 67000 являются цитоплазматическими. Они соединяются с цитохромом b558 после активации фагоцита. В результате возникает НАДФН-оксидаза, необходимая для образования перекиси водорода [Babior V.M. et al., 2002; Karlsson A., Dahlgren C., 2002; Sheppard F.R. et al., 2005; Hawkins P.T. et al., 2007; El-Benna J. et al., 2008; Arruda M.A., Varja-Fidalgo C., 2009]. Гены, мутации которых приводят к каждому из перечисленных дефектов, клонированы, их нуклеотидная последовательность расшифрована. В активации этой системы участвуют фосфолипазы и протеинкиназа C, активируемые теми же пусковыми агентами.

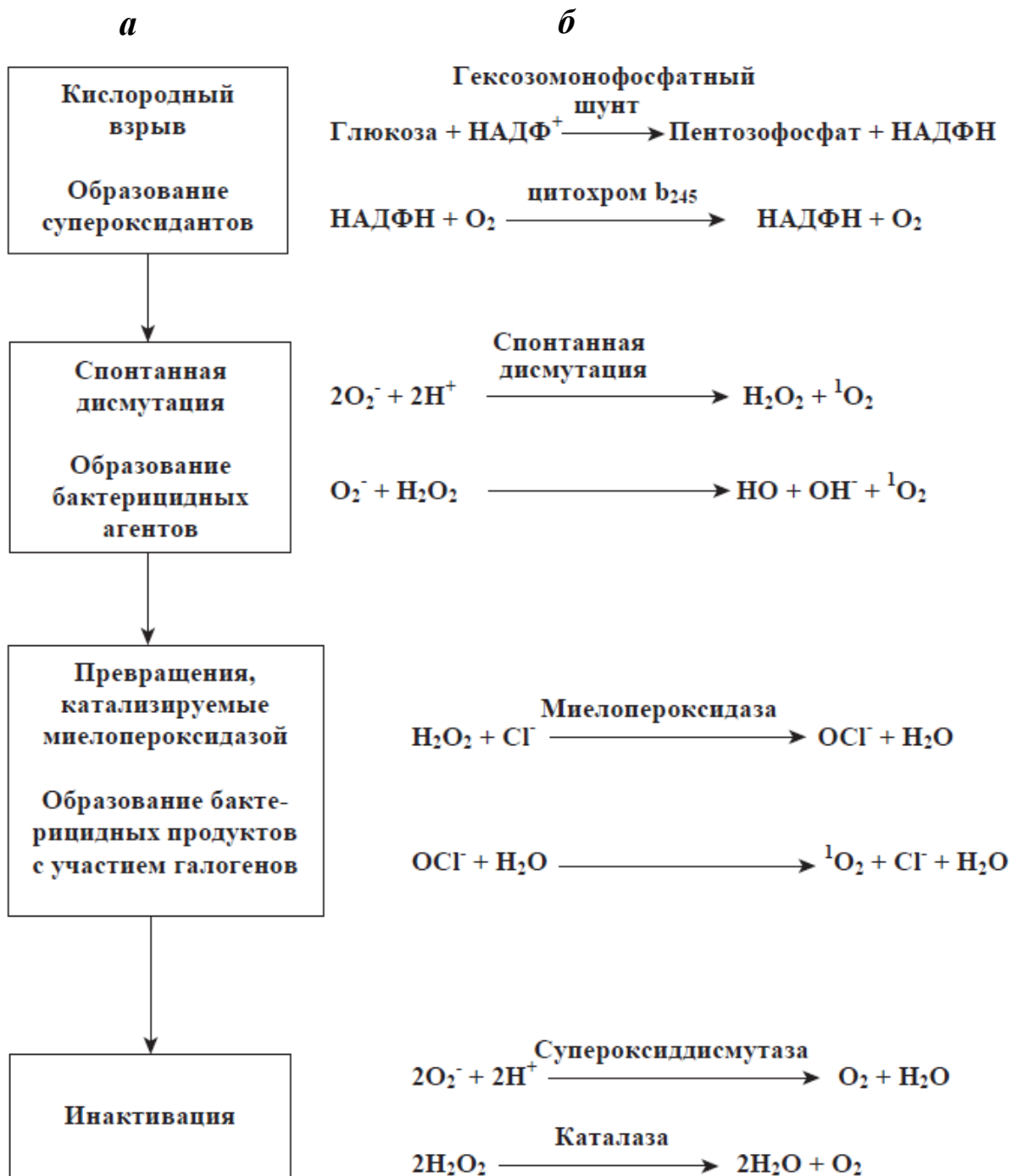


Рис. 2.1. Кислородзависимые процессы в фагоцитах, приводящие к образованию бактерицидных субстанций.

а – основные стадии превращений продуктов кислородного взрыва;

б – химические реакции, составляющие их основу.

Компоненты НАДФН-зависимой оксидазы – флавопротеид и цитохром b558 в нейтрофилах образуют в плазматической мембране непроч-

ный комплекс, который солюбилизируется при действии детергентов [Karlsson A., Dahlgren C., 2002; Arruda M.A., Barja-Fidalgo C., 2009]. Однако после активации фагоцитов этот комплекс становится значительно более прочным. Причиной такой трансформации оксидазы при активации клеток является встраивание в ее состав двух цитозольных факторов, которые после их фосфорилирования диффундируют из цитозоля и адгезируются на плазматической мембране в районе расположения b-субъединицы цитохрома b558. Механизм встраивания цитозольных компонентов в НАДФН-оксидазу в плазматической мембране не известен. Однако можно сказать, что это происходит в процессе активации оксидазы. Встраивание цитозольных белков и активация НАДФН-оксидазы зависели от концентрации стимулятора, времени стимуляции и температуры среды. Наблюдалась хорошая корреляция между уровнем образования активных форм кислорода (АФК) в процессе стимуляции клеток и скоростью транслокации цитозольных факторов на плазматическую мембрану гранулоцитов.

Важную роль в реализации функциональной активности фагоцитирующих клеток также играют и ферменты внутриклеточного метаболизма. В частности, обнаружено, что у больных рецидивирующей розеой в период разгара в нейтрофильных гранулоцитах крови выявляется высокая активность ЛДГ на фоне снижения миелопероксидазы и содержания катионных белков [Хмелевская В.И., Конопля А.И., 2003]. На стадии реконвалесценции и в межрецидивном периоде на фоне общепринятой терапии в нейтрофилах крови наблюдалось постепенное повышение содержания катионных белков и активности миелопероксидазы. Динамика активности ЛДГ имела прямо противоположную направленность. Считается, что стабильно низкие показатели активности миелопероксидазы и содержания катионных белков в сочетании с высоким уровнем ЛДГ при выписке из стационара и в межрецидивном периоде свидетельствуют о функциональной несостоятельности нейтрофильных гранулоцитов и возможности прогнозирования осложнений и рецидивов розеи.

Таким образом, метаболизм фагоцитирующих клеток обеспечивает их функциональную реактивность и влияет на развитие и исход воспалительных процессов. Исследование метаболических механизмов реализации функциональной активности фагоцитов позволит охарактеризовать как физиологические механизмы жизнедеятельности клеток, так и патогенетические процессы воспалительных заболеваний.

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

С современных позиций процесс диагностики есть системный факторный анализ всех имеющихся признаков (симптомов) заболевания с выделением симптомов, объединенных общим патогенезом (синдромов), и в дальнейшем – формирование понятия о взаимосвязи синдромов и симптомов, которое встречается при данной нозологической форме в абсолютном большинстве случаев, т.е. формирование диагноза. Необходимость системного, или синдромного, подхода в диагностике предполагает выделение первично пострадавшего звена функциональной системы, его вторичных системных следствий и компенсаторных перестроек. Такой “факторный” анализ позволяет поставить функциональный и топический диагноз.

Традиционно клиническая диагностика включает в себя предварительный этап, когда проводится сбор анамнеза болезни и анамнеза жизни пациента с оценкой общего состояния и отдельных органов и систем. Итогом этого этапа является постановка предварительного диагноза с определением плана дальнейшей инструментальной и лабораторной диагностики и назначения лечения. В последующем после получения дополнительной информации, в том числе и об эффекте лечения, диагноз уточняется, план ведения пациента корректируется, определяются объем терапии и реабилитационные мероприятия.

3.1. Клиническая диагностика иммунометаболических нарушений

Диагностика иммунометаболических нарушений ранее описывалась различными авторами лишь как изменения, выявленные при лабораторных исследованиях. Впервые на основании анализа литературных данных и собственных исследований мы выделяем симптомы и синдромы, связанные с иммунометаболическими нарушениями.

Предварительный диагноз иммунометаболических нарушений также базируется на принципах анализа клинических данных с выделением основных иммунопатологических синдромов и подтверждается в дальнейшем специальными лабораторными исследованиями.

3.1.1. Иммунопатологические синдромы при заболевании внутренних органов

Нарушения функции иммунной системы проявляются различными патологическими состояниями, клинически это:

- неспособность развивать нормальный иммунный ответ, что ведет к развитию иммунодефицитов и, как следствие, проявляется самыми различными специфическими и неспецифическими инфекционными заболеваниями и опухолями. Это гипореактивные или гипоэргические иммунопатологические состояния;
- неправильное распознавание внешних и собственных антигенов, гиперэргическим (гиперреактивным) или неадекватным иммунным ответом, что ведет к развитию аутоиммунных процессов и аллергических заболеваний.

Таким образом, нарушения функционирования иммунной системы проявляются недостаточным или избыточным реагированием на экзо- и эндогенные агенты. С учетом патогенеза заболевания все иммунопатологические состояния по механизму действия следует определять как гипореактивные и гиперреактивные (рис. 3.1).

При гипореактивных (гипоэргических) состояниях выделяют следующие синдромы:

1. Недостаточность (иммунодефицит) клеточно-эффекторного звена иммунитета, который проявляется следующими признаками:

- частые ОРВИ (более 4 раз в год у взрослых и не менее 6 раз у детей);
- клинически выраженные инфекции, вызванные группой вирусов герпеса (рецидивирующее течение герпеса 1-го и 2-го типа, затяжное и/или рецидивирующее течение герпеса зостера, хроническое течение заболевания при вирусе Эпштейна–Барр и цитомегаловирусной инфекции, выявление инфекции, вызванной вирусом герпеса 6-го и 8-го типа);
- все виды бородавок, остроконечные кондиломы, опосредованные папилломавирусом человека;
- вирусные гепатиты (В, С, D, F, G);
- контагиозный моллюск;



Рис. 3.1. Синдромы иммунопатологических состояний.

- повторные детские инфекции (у детей в возрасте старше 7 лет и взрослых);
- инфекции, развивающиеся после проведения вакцинации;
- грибковые инфекции (кандидамикоз, дерматомироз) кожи, ногтей, слизистых оболочек (молочница), внутренних органов, трихофития;
- опухоли различных видов и локализаций.

2. Гуморально-эффektorный иммунодефицит (недостаточность)

можно диагностировать при наличии у больного:

- бактериальных инфекций верхних дыхательных путей и ЛОР-органов (более 3–4 раз в год с затяжным течением, с остаточными явлениями в виде субфебрилитета, астении) – хронические тонзиллиты, гнойные отиты, гаймориты и другие синуситы;
- бактериальных инфекций легких (хронические бронхиты с пневмониями в анамнезе или в качестве монозаболевания с бронхоспастическим компонентом или без него, острые и хронические пневмонии различной этиологии и тяжести). Инфекции вызываются инкапсулированными пиогенными микроорганизмами (стрептококками, пневмококками, *Haemophilus influenzae* и др.), поражающими верхние и нижние отделы респираторного тракта. Они развиваются, как правило, во втором полугодии жизни ребенка после исчезновения из кровяного русла материнских иммуноглобулинов, что позволяет диагностировать врожденные дефекты антителообразования;
- бактериальных инфекций кожи и подкожной клетчатки (пиодермии, фурункулез, абсцессы, флегмоны, септические гранулемы, рецидивирующий парапроктит у взрослых);
- инфекционно-воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы (цистит, пиелонефрит, инфекции мочевыводящих путей, инфекции мочеполовой системы, заболевания передающиеся половым путем);
- заболеваний пищеварительного тракта, вызванные бактериями (стоматит, гингивит, пародонтит, эзофагит, гастрит, гастроудоденит, язвенная болезнь, колит, энтероколит, холецистит, инфекционный гастроэнтерит);
- других бактериальных инфекций: менингоэнцефалита, артрита, сепсиса и пр.;
- дисбактериозов, в том числе кишечных дисбактериозов.

3. Синдром недостаточности регуляторного звена иммунитета диагностируется при сочетании вышеописанных синдромов. При этом необходимо выделить некоторые особенности течения этих заболеваний, а именно:

- затяжное или хроническое течение с частыми рецидивами (непрерывно рецидивирующие бактериальные и/или вирусные инфекции слизистых

оболочек респираторного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов, кожных покровов);

- активация условно-патогенной флоры, микст-инфекция, смена возбудителя в динамике болезни (как правило, на фоне специфической терапии), вовлечение в процесс других органов;
- устойчивость к стандартной специфической терапии или быстрое развитие рецидива после лечения.

4. Синдром недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена. Диагностические признаки нередко идентичны признакам синдрома недостаточности гуморального звена иммунитета. Однако обычно при этом синдроме бактериальные инфекции протекают вяло, без высокой температуры и других признаков воспаления. Характерными признаками недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена считаются:

- рецидивирующие абсцессы разных локализаций;
- локальные бактериальные инфекции.

5. Гипорегенеративный синдром проявляется тогда, когда после повреждения не происходит возмещение дефекта ткани, идентично погибшей, с восстановлением структуры и способности органа к выполнению специализированной функции. Т.е. если после заболевания функция органа не восстановилась, следует диагностировать гипорегенеративный синдром. Это достаточно большая группа заболеваний и причины этого могут быть самые различные (нарушения микроциркуляции, недостаточность митоза клеток поврежденного органа и прочее). Но одна из основных причин нарушения процессов регенерации связано с нарушением хоминга (процессы хемотаксиса, миграции и адгезии) и мобилизации стволовых клеток (СК), составляющих в постнатальном периоде существенный восстановительный резерв в организме и способствующих замещению поврежденных клеток. При истощении тканевых СК их количество может пополняться за счет СК костного мозга. При их недостаточности развивается нарушение процессов регенерации – гипорегенеративный синдром.

Гиперреактивные (гиперэргические) иммунопатологические состояния характеризуются одним или несколькими синдромами.

1. Реагиновый (анафилактический, атопический) синдром. Его развитие связано с образованием антител, получивших название “реагины” (иммуноглобулины класса Е и некоторые подклассы иммуноглобулина G). Они фиксируются на тучных клетках и базофилах. При соединении реагинов с соответствующим антигеном (аллергеном) из этих клеток выделяются медиаторы (гистамин, серотонин, простагландины и другие), что и определяет клиническую картину заболевания. Клинические проявления реакции возникают обычно через 15–20 мин после контакта сенсibilизированного организма со специфическим аллергеном (отсюда и название “реакция немедленного типа”).

Различают анафилаксию общую (анафилактический шок) и местную (крапивница, отек Квинке, бронхиальная астма, поллиноз, атопический дерматит, аллергический ринит), хотя эти подразделения весьма условные, так как многие “местные” реакции значительно влияют на организм в целом и наоборот.

2. Антителозависимый цитотоксический синдром (цитолитический или антителозависимая цитотоксическая гиперчувствительность). При этой реакции образуются антитела (IgG, реже IgM) к клеткам тканей, которые взаимодействуют с естественными антигенами клеточных поверхностей или же с антигенами, вторично сорбированными на клеточной поверхности. Повреждение и лизис клеток возникают вследствие активации системы комплемента образующимся комплексом антиген-антитело. Также лизис клеток может наступать вследствие действия на них клеток-киллеров (например, NK-клеток), вовлекаемых в реакцию молекулами антител, которые антигенсвязывающим участком связываются с поверхностью клеток-мишеней, а Fc-фрагментом – с Fc-рецепторами клеток-киллеров. В этом случае лизис проходит без участия комплемента.

Антителозависимый цитотоксический тип реакции наблюдается при попадании в организм гомологичных антигенов, например при переливании крови (в виде аллергических гемотрансфузионных реакций), при гемолитической болезни новорожденных, остром отторжении трансплантата. К цитотоксическому типу реакций относятся проявления лекарственной аллергии, такие как лейкопения, тромбоцитопения, гемолитическая анемия и др.

Одним из механизмов развития аутоиммунных заболеваний также является антителозависимая цитотоксичность, где в качестве антигенов выступают собственные аутоантигены, перекрестно реагирующие с гетероантигенами.

Как исход антителозависимой цитотоксичности можно считать воздействие антител на клетку, в результате которого происходит стимуляция функции этой клетки. Механизм стимуляции объясняется тем, что выработанные антитела специфически реагируют с рецепторами клетки, активирующими ее. Примером такого состояния является гиперреактивность щитовидной железы при диффузно-токсическом зобе.

3. Синдром патогенного воздействия иммунных комплексов. Иммунные комплексы образуются при любом гуморальном ответе и обычно эффективно разрушаются мононуклеарными фагоцитами после активации комплемента. Но иногда за счет большого количества иммунных комплексов или при нарушении их элиминации ретикулоэндотелиальной системой они сохраняются в течение длительного времени, становясь повреждающим фактором, сорбируясь в разных органах и тканях. Основной повреждающий фактор отложения иммунных комплексов в тканях – увеличение сосудистой проницаемости. Микропреципитаты сосредотачиваются

вокруг сосудов и в сосудистой стенке, что приводит к нарушению микроциркуляции и вторичному поражению ткани, вплоть до некроза.

Болезни, обусловленные образованием иммунных комплексов, обычно связаны с хроническими персистирующими инфекциями (лепра, сифилис, малярия, стафилококковый эндокардит, геморрагическая лихорадка Денге, вирусный гепатит В, паразитарные инвазии и др.), аутоиммунными заболеваниями (ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.), поступлением большого количества антигенов в сенсibilизированный (легочное заболевание фермера, реакция Артюса) или интактный организм (сывороточная болезнь).

Одна из причин повреждающего действия иммунных комплексов может быть при недостаточности комплемента. В этом случае иммунные комплексы не взаимодействуют с комплементом, так как из-за его недостаточности не происходит активация фагоцитоза и иммунные комплексы не выводятся из организма, а адсорбируются в тканях. Аналогичный механизм развития связан с генетическими дефектами, которые приводят к образованию низкоаффинных антител и как следствие невозможностью связывать комплемент.

4. Клеточно-опосредованная цитотоксичность (гиперчувствительность замедленного типа). Главная особенность механизма патологической реакции замедленного типа состоит в том, что с антигенами взаимодействуют Т-лимфоциты. Реакция замедленной гиперчувствительности не менее специфична по отношению к антигенам, чем реакция с иммуноглобулинами, из-за наличия у Т-лимфоцитов рецепторов, способных специфически взаимодействовать с антигенами. Контакт антигенов с антиген-специфическими рецепторами на Th1-клетках приводит к клональному увеличению этой популяции лимфоцитов и их активации с выделением воспалительных лимфокинов (ИЛ-3, GM-CSF, TNF- β , ИФН- γ). Секретируемые цитокины обеспечивают реакцию воспаления и как следствие – ее визуальное проявление.

Клинически можно выделить два типа реакций клеточно-опосредованной цитотоксичности. Первая развивается при введении (диагностические пробы при туберкулезе, бруцеллезе, токсоплазмозе и прочее) или контакте с антигеном (аллергеном), когда происходит интенсивный выброс растворимых медиаторов, что приводит к эритеме и образованию папулы (индурация), достигающих максимума через 24–48 ч. При втором типе через 21–28 сут развивается гранулематозная реакция. К основным заболеваниям с гранулематозными реакциями гиперчувствительности замедленного типа относятся лепра, туберкулез, шистосомоз, саркоидоз, болезнь Крона, бруцеллез, сифилис. Активация макрофагов лимфоцитами с образованием гранул может способствовать ограничению инфекции, а гиперчувствительность замедленного типа указывает на активацию Т-клеток, хотя инфекция при этом не всегда ликвидируется.

Отдельным синдромом, сопровождающим любое иммунопатологическое состояние, является реакция воспаления.

Воспаление представляет собой каскад реакций, возникающих как неспецифический этап защиты организма в случае, когда повреждающий агент по силе и длительности превосходит барьерные возможности ткани.

Несмотря на многообразие факторов, вызывающих воспалительную реакцию, ответ на повреждение и закономерности, которые происходят в тканях, однотипны. Они представлены единством трех основных явлений:

- 1) альтерации (повреждения) и распознавания чужеродных веществ;
- 2) сосудистой реакции (нарушения микроциркуляции);
- 3) клеточной реакции.

Все они взаимосвязаны и идут параллельно, их не следует считать стадиями или этапами, чередующимися один за другим.

Воспаление всегда начинается с повреждения ткани и распознавания чужеродных веществ. Изначально организм человека непроницаем для микроорганизмов. Постоянно слущивающийся многослойный плоский эпителий кожи и слизистых, вырабатываемые клетками иммунной системы эфферентные молекулы в сочетании с нормальной микрофлорой являются непреодолимым препятствием для грибов, микробов и вирусов. При преодолении этого барьера за счет вирулентности микроорганизма происходит альтерация с выделением медиаторов воспаления (стресс-протеины, белки теплового шока, цитокины кератиноцитов и клеток соединительной ткани), которые вызывают расширение сосудов микроциркуляторного русла, повышают выпот из сосудов в ткани плазмы или сыворотки с образованием локального отека. Вообще универсальным показателем повреждения любой ткани является дегрануляция тучных клеток соединительной ткани с выходом гистамина и других активных веществ в межклеточное пространство и развитием сосудистой реакции.

Сосудистая реакция начинается со спазма сосудов – кратковременной реакции, которая переходит в фазу артериальной гиперемии (более длительная фаза). Гиперемия – это усиленное кровенаполнение ткани за счет увеличенного притока крови: возрастает скорость кровотока, повышаются давление в сосудах и интенсивность обмена в капиллярах. Отсюда внешние признаки воспаления на этой фазе – покраснение, местный жар (повышение температуры), боль, вызванная действием медиаторов, возникают, во-первых, из-за нарушения биоэнергетических процессов в тканях. На повреждение отвечают все элементы ткани: микроциркуляторные единицы (артериолы, капилляры, вены), соединительная ткань, волокнистые структуры и клетки соединительной ткани, тучные и нервные клетки. Нарушение биоэнергетики в этом комплексе проявляется в снижении потребности кислорода тканью, уменьшается тканевое дыхание. Повреждение митохондрий клеток – важнейшая предпосылка для этих нарушений. Если в тканях преобла-

дает гликолиз, то возникает дефицит АТФ и энергии, накапливаются недоокисленные продукты (молочной кислоты), возникает ацидоз, развитие которого приводит к нарушению активности ферментативных систем, к дезорганизации метаболического процесса. Повреждение клеток носит летальный, необратимый, характер. Во-вторых, происходит нарушение транспортных систем в поврежденной ткани. Это связано с повреждением мембран, недостатком АТФ, необходимого для функционирования основной транспортной системы – калиево-натриевого насоса. Универсальным проявлением повреждения любой ткани является выход калия из клеток и задержка в клетках натрия, с которым связано еще одно тяжелое или летальное повреждение – задержка в клетках воды, т.е. внутриклеточный отек. Выход калия ведет к углублению процесса дезорганизации метаболизма, стимулирует процессы образования биологически активных веществ – медиаторов. В-третьих, при нарушении целостности клеток происходит повреждение мембран лизосом с высвобождением лизосомальных ферментов, спектр действия которых чрезвычайно широк. Фактически они могут разрушать любые органические субстраты, поэтому при их высвобождении наблюдаются летальные повреждения клеток и высвобождение медиаторов. Кроме того, лизосомальные ферменты, действуя на субстраты, образуют новые биологически активные вещества, токсически действующие на клетку и усиливающие повреждение ткани.

Уже на этой стадии начинается формирование припухлости или воспалительного отека, потому что именно на фоне гиперемии начинается процесс экссудации. Под действием медиаторов происходит экссудация – выход жидкой части плазмы за пределы сосуда. Экссудат содержит большое количество белка в связи с нарушением проницаемости сосуда. При сдавливании венул происходит смена артериальной гиперемии на венозную. Чем больше экссудата, тем более выражены явления венозного застоя. Венозная гиперемия постепенно переходит в венозный стаз. Именно в этой фазе происходят значительные изменения поврежденной ткани – так называемые явления вторичного повреждения. Любой венозный застой сопровождается гипоксией: переход на анаэробный процесс окисления – гликолиз, возникновение ацидоза за счет недоокисленных продуктов, т.е. те же изменения, которые характерны для первичного повреждения. Накопление кислых продуктов в фазу венозного застоя достигает колоссальных количеств. Наблюдается резко выраженный ацидоз (сдвиг рН до 6,0–5,8), а такой сдвиг рН уже непереносим клетками и они погибают. В центре очага воспаления возникает некроз. При незначительном повышении концентрации водородных ионов (на периферии очага воспаления) и нелетальных повреждений клеток незначительный сдвиг рН стимулирует разрастание грануляционной ткани – образуется грануляционный вал на периферии. Здоровая ткань отграничивается от поврежденной, она богата фиксированными макрофагами, которые способны поглощать поврежденные клетки, токсины, очищая очаг воспаления.

Вторичное повреждение также проявляется гиперосмией и гиперонкией. Развитие гиперосмии определяется усиленным катаболизмом и распадом тканей. Распад белков, жиров, углеводов, выброс калия из клеток с усилением диссоциации солей создают высокую осмотическую концентрацию – гиперосмию. Гиперонкия – увеличение концентрации белков за счет распада ткани, экссудации плазменных белков из сосудов с нарушенной проницаемостью. Эти явления создают порочный круг, усиливая процесс экссудации. Белки как бы притягивают воду, а гиперосмия является повреждающим фактором, который повышает проницаемость стенки сосуда.

При экссудации изменяются биологические свойства крови – увеличивается ее вязкость, кровоток замедляется, усиливаются процессы тромбообразования, наблюдаются краевое стояние лейкоцитов, которые выстраиваются вдоль сосудистой стенки, а затем их миграция в очаг воспаления. Изменение спектра плазменных белков (выход альбумина, повышение концентрации γ -глобулинов), увеличение содержания простагландинов и других биологически активных молекул влияет на состав мембран, повышает клеточную ригидность, преобразует поверхностное натяжение мембран эритроцитов, что усиливает их способность к агрегации (этим объясняется ускорение СОЭ).

Тромбоциты тоже приобретают способность к агрегации, но в отличие от эритроцитов этот процесс идет на поверхности сосудистой стенки, в месте ее повреждения. При воспалении происходит ее повреждение, количество простагландина, который предотвращает адгезию и агрегацию тромбоцитов, уменьшается, начинаются процессы адгезии и агглютинации тромбоцитов. Из тромбоцитов выделяются тромбоксаны – мощные стимуляторы процессов адгезии и агрегации. В нормальных условиях эта простагландин-тромбоксановая система уравновешена. При воспалении происходит активация фактора Хагемана, уменьшение содержания гепарина, что ведет к коагуляции и множественным процессам тромбообразования в очаге воспаления.

Экссудация способствует отграничению очага воспаления, препятствует оттоку токсинов, микробов, распавшихся тканей. В составе экссудата в поврежденную ткань выходят биологические активные вещества, медиаторы, которые способны нейтрализовать токсины, защитные белки, антитела, лейкоциты. Все это ограничивает пространство внедрения патогена и препятствует дальнейшему проникновению патогена внутрь организма.

Помимо этого чужеродные молекулы, экспрессируемые возбудителями инфекций (РАМР), а также эндогенные сигналы опасности (стрессорные молекулы и образы опасности – DAMP) распознаются клетками иммунной системы, которые локализованы в покровных тканях (дендритные клетки, макрофаги и В-лимфоциты). Распознавая эти молекулы клетки иммунной системы, в первую очередь макрофаги, вырабатывают цитокины, которые также стимулируют процессы воспаления и обеспечивают клеточную миграцию лейкоцитов из кровотока в очаг воспаления. При

этом клеточная миграция зависит от анатомической области, где протекает воспаление, от присутствия хемотаксических молекул и различных цитокинов в тканях, а также от характера активации мигрирующих клеток. Если воспаление вызвано инфекционным агентом, то для хемотаксиса большое значение имеют продукты жизнедеятельности микроорганизмов, а также вещества, возникающие в результате взаимодействия антигенов и антител. Это прежде всего компоненты комплемента С3 и С5. Клеточный состав экссудата в значительной степени зависит от этиологического фактора воспаления. Так, если воспаление вызвано гноеродными микробами (стафилококки, стрептококки), в экссудате преобладают нейтрофильные гранулоциты, если оно протекает на иммунной основе (аллергия) или вызвано паразитами (гельминты) – содержится много эозинофильных гранулоцитов. При хроническом воспалении (туберкулез, сифилис, вирусные инфекции) в экссудате имеется много мононуклеаров (макрофаги, дендритные клетки, НК-лимфоциты, НКТ-клетки, $\gamma\delta$ Т-клетки и В1-лимфоциты). Если эти клетки не успевают обеспечивать элиминацию патогена, запускается вторая линия защиты, связанная с развитием адаптивного иммунного ответа, включающего две фазы: индуктивную и продуктивную (эффекторную).

Полноценное функционирование адаптивного иммунитета основано на распознавании генетически чужеродной информации, которое, прежде всего, осуществляется дендритными клетками. Дендритные клетки, связавшие, поглотившие и метаболизовавшие патогены в очаге поражения, активируются. Они начинают синтезировать различные цитокины, экспрессируют дополнительные корецепторные мембранные молекулы и комплексы пептидов патогена – антигены патогена с антигенами главного комплекса гистосовместимости (МНС). В дальнейшем такие клетки мигрируют из очага поражения в регионарные лимфоидные органы.

Пришедшие в лимфатические узлы дендритные клетки располагаются в Т-зависимых зонах и представляют антигены интенсивно мигрирующим Т-лимфоцитам. Если находится Т-лимфоцит, который связывается с данным комплексом антиген патогена–антиген МНС, то данная клетка получит активационный сигнал, в результате которого она начинает пролиферировать и дифференцироваться. В результате образуется клон антиген-специфичных Т-лимфоцитов. В процессе дифференцировки Т-лимфоцит экспрессирует в надлежащем количестве мембранные молекулы и цитокины, необходимые для взаимодействия с В-лимфоцитами, гранулоцитами или для атаки на клетки-мишени.

Также в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов происходит взаимодействие активированных антигенами Т-лимфоцитов с активированными В-лимфоцитами. После такого взаимодействия последние мигрируют в зону фолликула, где пролиферируют и дифференцируются в плазматические клетки, продуцирующие антитела. Сюда же мигри-

руют и Th2-лимфоциты, под воздействием которых происходит процесс отбора по аффинности антител. Только В-лимфоциты с наиболее высокоаффинными вариантами антител будут выживать и пролиферировать при вторичном иммунном ответе. Дифференцировавшиеся в плазмочиты В-лимфоциты уходят из фолликулов лимфоидных органов в костный мозг, селезенку и слизистые оболочки, где и секретируют антитела.

Эфферентная функция антител проявляется в нейтрализации антигена с образованием иммунного комплекса, с последующей элиминацией и деструкцией его нейтрофилами и макрофагами. Деструкция комплексов антиген–антитело также осуществляется активированной системой комплемента, механизмами антителозависимой клеточной цитотоксичностью НК-клеток и эозинофилов, активацией комплексом антиген–антитело тучных клеток и базофилов с развитием сосудистых реакций. При этом антитела, связавшись с вирусом, прионом или бактерией, препятствуют проникновению патогена в клетки, распространению в ткани организма и/или нейтрализуют токсичность яда.

Т-лимфоциты-эффекторы выходят из регионарных лимфатических узлов через эфферентные лимфатические сосуды, попадают в грудной лимфатический проток и оттуда в системную циркуляцию. Дальше они мигрируют через кровь в очаг воспаления в месте проникновения или диссеминации патогена. Состояние активации этих клеток сопряжено с усилением биосинтеза и секреции различных молекул. За счет синтеза перфорина и гранзимов цитотоксические Т-лимфоциты ($CD8^+$ -клетки) обеспечивают гибель клеток-мишеней. $CD4^+$ -Th1-лимфоциты синтезируют интерферон- γ , который активирует макрофаги с развитием воспаления по классическому типу гиперчувствительности замедленного типа. $CD4^+$ -лимфоциты, продуцирующие ИЛ-5, активируют эозинофилы, тучные клетки, базофилы, вызывают воспаление, характерное для аллергических заболеваний, васкулитов, что также встречается при отторжении трансплантатов.

В зависимости от природы и локализации патогена (бактерии или вирусы, внеклеточные или внутриклеточные патогены и т.д.) преимущество имеют разные эффекторные механизмы с количественным увеличением той или иной популяции клеток. В защите от внеклеточных патогенов преобладает гуморальный иммунный ответ. Основными эффекторными молекулами являются антитела, секретируемые плазматическими клетками, дифференцирующимися из В-лимфоцитов при участии Th2- и Th17-лимфоцитов. Антитела способны связываться с антигенами, как представленными на клеточной мембране, так и находящимися в свободной растворимой форме. Они блокируют активность микроорганизма и/или нейтрализуют антигены (например, токсины). Помимо этого комплекс антиген–антитело обеспечивает распознавание и поглощение чужеродных клеток фагоцитами и каскадную активацию комплемента с дальнейшей

стимуляцией фагоцитоза и формированием мембраноатакующего комплекса. Кроме того, на опсонизированных антителами клетках естественные клетки-киллеры распознают Fc-рецепторы и лизируют ее по механизму антителозависимой цитотоксичности. Эти же рецепторы распознаются и макрофагами, что является стимулом для синтеза ими цитокинов.

При инвазиях защита организма также осуществляется за счет антител, но в этом случае наибольшую роль играют эозинофилы, привлекаемые цитокинами, которые секретируются Th2-лимфоцитами и тучными клетками. Эозинофилы располагаются по поверхности паразита и выделяют содержащиеся в их эозинофильных гранулах высокоактивные белки, убивающие паразитов.

Защита от внутриклеточных патогенов осуществляется двумя механизмами иммунной системы. Во-первых, за счет активации макрофагов Th1-лимфоцитами происходит повышение их бактерицидной активности, что способствует разрушению внутриклеточных патогенов, т.е. завершается нейтрализация патогенов, поглощенных фагоцитозом. Результатом является активация эффекторных клеток врожденного иммунитета и соответственно элиминация патогена. Аналогичный механизм активации присутствует и в противогрибковой защите, но в качестве активаторов выступают Th17-лимфоциты, а в качестве эффекторов [Besnard A.G. et al, 2012; Bi Y., Yang R., 2012; Raza A. et al., 2012; Toussiot E., 2012].

Второй механизм, направленный на элиминацию инфицированных клеток (вирусы, бактерии), осуществляется с помощью цитотоксических T-лимфоцитов, которые развиваются в T-зонах лимфоидных органов при презентации антигенного пептида антигенпрезентирующими клетками и под воздействием ИЛ-2, вырабатываемым Th1-клетками. Такой же механизм иммунная система использует при борьбе с опухолевыми клетками и при отторжении трансплантата.

Таким образом, клетками иммунной системы осуществляется распознавание и деструкция патогенных клеток (микроорганизмы, патогенные собственные клетки), а антитела обеспечивают быструю инактивацию растворимых продуктов патогенов в жидких средах организма, в первую очередь в крови, и подведение патогенных субстанций к клеткам, имеющим специальные механизмы деструкции (нейтрофилам, макрофагам, НК-клеткам, эозинофилам, тучным клеткам). Для этого антитела в составе комплекса антиген–антитело–комплемент фиксируются на эритроцитах, которые в синусоидах селезенки и печени фагоцитируются и разрушаются гидролитическими ферментами, кислородными радикалами и радикалами оксида азота до мелких метаболитов, экскретируемых из организма через системы выделения (почки, желудочно-кишечный тракт).

Необходимо отметить, что итогом нормального иммунного ответа является деструкция (альтерация) собственных тканей, поврежденных инфекцией. Если при этом полностью наблюдается полная элиминация пато-

гена, то наступают выздоровление и регенерация тканей в очаге деструкции. Излишняя и/или неспецифическая активация лимфоцитов либо затяжная во времени активация одних и тех же клонов лимфоцитов формирует патологические состояния в виде хронического воспаления, в том числе аутоиммунного. При этом воспалительная реакция с участием адаптивного иммунитета гораздо более агрессивна, чем сформированная клетками системы неспецифической резистентности, так как она направлена лимфоцитами на деструкцию поврежденных клеток и тканей собственного организма. Для предотвращения этой патологической реакции существуют супрессорные механизмы иммунного ответа, сопряженные с активацией и увеличением числа регуляторных клеток и синтезом, обеспечивающих эти процессы цитокинов (например, ИЛ-10).

Необходимо отметить, что под активацией иммунной системы понимается ее переход из состояния покоя в функционально активное. Активация подразумевает под собой ряд сложных этапов, сопряженных с экспрессией многих генов и активацией внутриклеточных метаболических процессов, конечный итог которых направлен на увеличение численности клеток и стимуляцию их функции, за счет чего и осуществляется защита от генетически чужеродных объектов.

Исходная численность клеток в каждом клоне, прежде всего лимфоцитов, мала и недостаточна для защиты организма от патогенов и других источников биологической агрессии. Именно поэтому первым процессом активации иммунной системы является пролиферация. Числа клеток, специфичных антигену и составляющих соответствующий клон, увеличивается в 100-1000 раз. Данная реакция находит отражение при лабораторных исследованиях. Отсутствие такой реакции, наоборот свидетельствует об ареактивности иммунной системы. Второй процесс активации – стимуляция функции клеток иммунной системы – сопряжен с определенными реакциями, осуществляемыми самими клетками. Например, макрофаги начинают продуцировать активные формы кислорода, тучные клетки выбрасывают гранулы, В-лимфоциты синтезируют антитела, цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки переходят к готовности выполнять цитотоксическую функцию и т.д. Все эти процессы зависят от двух составляющих: от получения клеткой определенных индукторов активации – антигенного стимула и комплекса цитокинов, а также от определенных генетических и метаболических способностей клетки осуществлять пролиферацию и синтезировать необходимые вещества.

Таким образом, иммунный ответ соответствует этапам адаптивной стресс-реакции организма на воздействия извне. Индуктивная фаза состоит в реакциях врожденного иммунитета с формированием исполнительных механизмов адаптивного иммунитета. В продуктивной фазе вместе с механизмами врожденного иммунитета происходит распознавание и элиминация патогена. Адаптивный иммунитет – это сложный многоэтапный про-

цесс с привлечением большого количества самых разнообразных популяций Т- и В-лимфоцитов, направленный на индивидуальное распознавание и нейтрализацию антигена. При этом в активацию вовлекаются только специфичные к распознаванию данного антигена клоны лимфоцитов с увеличением их числа, которые находят отражение в общем пуле лимфоцитов.

3.1.2. Классификация иммунопатологических состояний

Определив наличие нарушений функций иммунной системы, в дальнейшем на основании клинических данных необходимо их классифицировать. Выше нами были описаны основные иммунопатологические синдромы (рис. 3.1). Гипореактивные (гипоэргические, гипочувствительные) синдромы связаны с дефицитом макрофагально-фагоцитарного, клеточно-эффекторного, гуморально-эффекторного, регуляторного и регенеративного звеньев иммунитета. Гиперреактивные (гиперэргические, гиперчувствительные) состояния выражаются в виде гиперчувствительности немедленного типа (реагиновый, анафилактический, атопический синдром), антителозависимой цитотоксической гиперчувствительности, иммунокомплексной гиперчувствительности, гиперчувствительности замедленного типа (клеточно-опосредованный) [Адо А.Д., 1978; Ройт А. и др., 2000]. Прежде всего, необходимо определить время заболевания и решить стойкое или временное (транзиторное) это состояние. Из общепризнанных медицинских критериев предлагаем считать нарушения функции иммунной системы, продолжающиеся более 6 мес, стойкими, менее 6 мес – транзиторными.

На втором этапе, выделив основные синдромы заболевания, необходимо решить, какой основной механизм нарушения функции иммунной системы – гипореактивный или гиперреактивный. С клинической точки зрения также выделяется смешанный вариант нарушения функции иммунной системы, проявляющийся признаками, отнесенными к обеим квалификационным категориям, которые нередко встречаются в клинической практике.

Следующим этапом необходимо попытаться определить причину возникновения (этиологию) иммунопатологического состояния. В зависимости от причин и механизмов формирования, выделяют три основные формы иммунных нарушений.

1. Индуцированные – обусловлены влиянием на иммунную систему конкретных воздействий. С учетом данных ВОЗ, можно выделить следующие причины их развития:

а) бактериальные и вирусные инфекции, протозойные и глистные инвазии;

б) повреждающие факторы внешней среды физического и химического характера;

в) интоксикации различного генеза – экзогенные (отравления) и эндогенные (хронические интоксикации);

г) ятрогенные факторы – длительный прием антибиотиков, цитостатиков, глюкокортикостероидов и других иммунодепрессантов, в том числе используемые при проведении трансплантации органов и тканей;

д) метаболические факторы – алиментарный, гипоксический, эндокринный, стрессовые, истощение антиоксидантной системы и прочее;

е) оперативные вмешательства, травмы;

ж) состояния, приводящие к потере клеток иммунной системы и иммуноглобулинов (кровотечения, лимфорей, нефриты);

з) “физиологические” иммунодефициты, возникающие в раннем детском возрасте, старческом возрасте, при беременности.

Прежде всего, необходимо остановиться на алиментарном дефиците белков, макро- и микроэлементов, витаминов и других жизненно важных веществ. Они связаны с недостаточным содержанием витаминов в суточном рационе, разрушением витаминов и других компонентов при неправильной кулинарной обработке и хранении пищи, содержанием в продуктах консервантов с антивитаминым действием, пищевыми извращениями и религиозными запретами на ряд продуктов.

Вторая, не менее важная, причина, наблюдаемая нами, это угнетение нормальной кишечной микрофлоры, продуцирующей витамины и нарушения усвоения витаминов. Это связано с широко распространенными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, применением длительных и нерациональных курсов антибактериальной терапии, сокращением потребления липидов, приводящие к сбоям в абсорбции витаминов А, D, E, K, широко распространенными паразитарными инвазиями.

При этих состояниях развитие гиповитаминозов и иммунометаболических патологий связаны с нарушениями кишечной микрофлоры, продуцирующей ряд витаминов и процессов всасывания. К этой группе относятся пациенты, страдающие воспалительными заболеваниями желудка, кишечника, гепатобилиарной системы, а также пациенты, перенесшие хирургические вмешательства на желудочно-кишечном тракте. По данным статистики, нерациональное назначение антибиотиков составляет порядка 34 % от общего количества назначений. Назначение антибиотиков при ОРВИ, по данным исследований, составляют 10 % всех назначений антибактериальных средств. В результате нерациональной химиотерапии большое количество пациентов страдают нарушением микрофлоры кишечника и, как следствие, недостаточным синтезом витаминов группы В.

Третьей, не менее важной, причиной можно считать увеличение в современном мире потребности организма человека в витаминах. Ряд физиологических и патофизиологических состояний организма требует по-

вышенного количества витаминов. К этим состояниям относятся: инфекционные заболевания и интоксикации, заболевания внутренних органов и желез внутренней секреции, экстремальные климатические условия проживания, неблагоприятная экологическая обстановка, действие вредных факторов на производстве, повышенные физическая и умственная нагрузки, стресс. Не всегда эти потребности покрываются с едой и, как следствие, происходит формирование гиповитаминозов и развитием иммунной патологии.

2. Спонтанная форма дисфункции иммунной системы, развивающаяся без видимых причин и характеризующаяся наличием клинических признаков иммунных нарушений, встречается в клинической практике наиболее часто.

Можно согласиться с Р.М. Хаитовым и Б.В. Пинегиным [1999], что в основе многих, а может быть практически и всех клинических форм иммунных нарушений, лежит первичная (врожденная) иммунологическая недостаточность какого-то компонента иммунитета, скомпенсированная до определенного времени за счет нормальной или высокой функциональной активности других компонентов системы. Снижение функциональной активности последних со временем и позволяет клинически проявиться первичному, пусть даже легкому, дефекту иммунной системы, поэтому, если на настоящем этапе не выявлены причины иммунопатологии, то это не только следствие неадекватного методического подхода, но и невозможность идентифицировать имеющуюся поломку на данном этапе развития методической базы [Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 1999].

Отсюда следует выделить третью группу причин нарушения функции иммунной системы, а именно врожденные формы. Помимо классических первичных иммунодефицитов, связанных с пороками развития иммунной системы (генетическими блоками) [Петров Р.В., 1982], гораздо чаще встречаются врожденные нарушения иммунной системы, которые определяются точечными мутациями в геноме, что приводит к образованию полиморфных вариантов белков и нарушению их функции (структурной, регуляторной, рецепторной, функциональной). Тяжесть таких иммунных нарушений зависит от роли белка(ов) и степени нарушения его(их) функции при развитии иммунного ответа.

Как отдельную форму иммунодефицитов выделяют приобретенные иммунодефициты, связанные с поражением клеток иммунной системы, например вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), хотя, с другой стороны, это можно рассматривать, как необратимую разновидность индуцированного иммунодефицита.

Следующий важнейший этап классификации – определение степени тяжести. По степени тяжести нарушения функций иммунной системы необходимо выделить следующую градацию: легкую, среднетяжелую и тяжелую. Легкая степень дисфункции характеризуется локальным пораже-

нием с вовлечением в процесс одного органа без нарушений функций всего организма. Иммунопатология тяжелой степени – это генерализованные процессы с нарушением функций организма, с угрозой для жизни больного. Все оставшиеся клинические случаи следует квалифицировать как среднетяжелые.

Учитывая, что различные компоненты иммунной системы принимают неодинаковое участие в иммунном ответе, по характеру клинической картины и наличия того или иного синдрома предварительно можно судить о том, какой компонент иммунной системы работает неадекватно. Дополнительно необходимо определить комбинированные нарушения функции иммунной системы – когда в иммунопатологический процесс вовлечены несколько компонентов иммунитета.

Суммарно клиническая классификация нарушения функций иммунной системы представлена в табл. 3.1.

В качестве построения диагноза иммунных нарушений можно привести следующие примеры:

1. Транзиторные, индуцированные, гиперреактивные нарушения гуморально-эффекторного звена иммунитета средней степени тяжести.

2. Стойкие, спонтанные, гипореактивные нарушения макрофагально-фагоцитарного звена иммунитета легкой степени тяжести.

В дальнейшем проведение лабораторно-иммунологических исследований позволяет идентифицировать конкретное нарушение иммунной системы, подтвердить клинический диагноз и назначить иммунотерапию.

Т а б л и ц а 3.1

Клиническая классификация нарушения функций иммунной системы

По длительности	По механизму	По этиологии	По степени тяжести	По уровню нарушения
Стойкие	Гипореактивные	Врожденные	Легкой степени	Макрофагально-фагоцитарное звено
Транзиторные	Гиперреактивные	Индуцированные (в т.ч. приобретенные)	Средней степени тяжести	Клеточно-эффекторное звено
			Тяжелой степени	Гуморально-эффекторное звено
	Смешанные	Спонтанные		Регуляторное звено
				Комбинированные

3.1.3. Клинические проявления метаболических нарушений функции клеток иммунной системы

Все процессы иммунной недостаточности имеют определенное метаболическое обеспечение. Не вызывает сомнений, что дисрегуляция метаболических процессов клеток иммунной системы влечет за собой нарушения со стороны иммунной системы и усугубляет течение патологического процесса.

В связи с этим необходимо определить клинически проявления дисфункции метаболизма клеток иммунной системы, а именно нарушения:

- энергетические,
- пластические,
- процессов утилизации.

Энергетический гомеостаз клеток иммунной системы при нормальных условиях обеспечивается благодаря утилизации жирных кислот, глюкозы (17,9 %) и молочной кислоты. В процессе метаболизма они преобразуются в ацетил-СоА и подвергаются окислению в митохондриях с образованием CO_2 и H_2O . Образовавшаяся энергия депонируется в макроэргических связях АТФ и расходуется в процессе выполнения функции клетки. Полное обновление внутриклеточных запасов АТФ происходит каждые 10–15 с. При нагрузке энергетические потребности клетки удовлетворяются за счет возрастания утилизации жиров и лактата через ФАД-зависимый участок цикла Кребса (быстрый метаболический кластер митохондрий). Снижение оксигенации клеток иммунной системы вызывает угнетение аэробного синтеза АТФ. Компенсаторная активация быстрого метаболического кластера митохондрий сдерживается нарастающим торможением фермента сукцинатдегидрогеназы продуктом утилизации янтарной кислоты – оксалоацетатом.

Снижение запасов АТФ восполняется усилением захвата глюкозы и быстрым истощением запасов гликогена. На последующих этапах синтез АТФ происходит благодаря активации гликолиза. В результате накапливается лактат, разобщается окислительное фосфорилирование и развивается лактоацидоз. Лактоацидоз активирует фосфолипазу A_2 , обуславливающую повреждение мембранных структур и инициирование процессов перекисного окисления липидов. В результате формируется гипоксический тип метаболизма.

Клинически кислородная (энергетическая) недостаточность на первых этапах проявляется учащением пульса и одышкой при незначительных физических нагрузках. В дальнейшем при более тяжелой степени тахикардия и одышка наблюдаются уже в покое. Происходит нарушение гемодинамики (гемодинамические признаки застоя крови в большом или малом круге кровообращения с нарушением функции органов). Развивается неспособность переносить любую физическую активность без дискомфорта,

одышки и слабость в покое и при минимальной физической нагрузке, “сердечные” отеки и/или асцит. Появляются признаки нарушений микроциркуляции: бледность кожных покровов, мраморность, умеренный цианоз/акроцианоз, умеренная пастозность нижних конечностей. Выраженные нарушения микроциркуляции – диффузный цианоз. На этом фоне функции клеток иммунной системы резко снижаются. Прежде всего, это находит отражение в неадекватном иммунном ответе, отражающиеся в нарушении миграции клеток иммунной системы, угнетается фагоцитоз, снижается киллерная активность НК-клеток и Т-эффекторов, угнетается синтез иммуноглобулинов и цитокинов. За счет угнетения энергетических процессов замедляются процессы пролиферации клеток. Все это находит отражение при лабораторных исследованиях. Согласно нашим исследованиям, сниженные энергетические процессы в клетках иммунной системы чаще всего наблюдаются при клеточно-эффекторных и макрофагально-фагоцитарных нарушениях.

Пластические нарушения прежде всего связаны с нарушениями процессов пролиферации всех типов клеток иммунной системы. Помимо этого страдает синтез иммуноглобулинов и цитокинов. Клинические признаки данных нарушений проявляются в виде неадекватного иммунного ответа и нарушениями процессов регенерации. Течение заболевания, как правило, протекает вяло, без высокой температуры и других признаков воспаления. Реабилитационный период протекает длительно, нередко после повреждения не происходит возмещения дефекта ткани, идентично погибшей с восстановлением структуры, и орган и/или система не способны выполнять специализированную функцию.

С интоксикацией приходится сталкиваться в самых разнообразных отраслях медицинской практики. Морфологической основой интоксикации являются взаимодействия избыточного количества физиологических продуктов клеточного обмена (кетоновые тела, мочевины, креатинин, мочевая кислота, молочная кислота и пр.), а в некоторых случаях – токсических органических соединений (аммиак) с рецепторами клеток с последующим изменением различных внутри- и внеклеточных регуляторных молекул. Следствием состоявшегося взаимодействия являются изменения тех или иных биохимических процессов и нарушение функционального состояния тканей и органов, которые так же стимулируются биологически активными веществами и медиаторами (интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухолей, кинины, серотонин, биогенные амины и пр.). При иммунных нарушениях значительная роль принадлежит и бактериальным эндотоксинам (липополисахариды) и иным бактериальным составляющим (теиховые кислоты, пептидогликаны, манноза и прочее), которые являются первичным биохимическим субстратом эндотоксикоза.

Условием развития интоксикации, которую понимают как динамический процесс, является доминирование токсинов над возможностями систем детоксикации их элиминировать.

Наиболее известными путями детоксикации являются:

- метаболические механизмы (утилизация кетоновых тел);
- экскреторные механизмы (выведение с мочой, выдыхаемым воздухом и содержимым желудочно-кишечного тракта);
- иммунные механизмы (поглощение токсинов клетками моноцитарно-макрофагальной системы, связывание нейтрализующими антителами и др.).

Помимо этого, на формирование интоксикационного синдрома и его клинических проявлений несомненное влияние оказывают развивающиеся водно-электролитные, осмотические и кислотно-основные нарушения.

Минимальная симптоматика интоксикации проявляется как легкое нарушение памяти, концентрации внимания, когнитивных функций, координации. Отмечаются незначительная диспепсия, сухость во рту, утомляемость, полидипсия, изостенурия, а при объективном осмотре – увеличение размеров печени (до 2 см). Суточный диурез, как правило, увеличен до 2–2,5 л. Лабораторные и функциональные показатели почек на фоне диуретической терапии – в пределах нормы или не превышают следующие значения: мочевины – не более 15 ммоль/л, креатинин – не более 0,30 ммоль/л, калий не более 4,5 ммоль/л, билирубин до 50 ммоль/л, АЛТ до 60 Ед/л, отношение АСТ/АЛТ – 0,5–1,0.

Более тяжелые состояния сопровождаются расстройствами сна, нарушением ритма сна, эйфорией, раздражительностью. Замедлена способность к выполнению интеллектуальных заданий. Наблюдается снижение внимания, в дальнейшем развиваются летаргия или апатия, дезориентация, неадекватное поведение, невнятная речь, легкая дезориентация во времени и в пространстве. Больные жалуются на общую слабость, утомляемость, периодическое ухудшение аппетита, появление сухости во рту, жажды. Отмечается смена улучшения и ухудшения состояния больного. Содержание билирубина – до 200 ммоль/л, АЛТ > 60 Ед/л, умеренно проявляется печеночная энцефалопатия и гепатоассоциированный геморрагический диатез, увеличивается размер печени (более чем на 3 см). Периодически проявляется гиперазотемия, оставаясь в пределах 13–20 ммоль/л по мочевины и 0,35–0,70 ммоль/л по креатинину. Отмечаются нарушения водно-электролитного баланса и кислотно-основного состояния.

Тяжелая степень сочетается с более глубоким поражением сознания, вплоть до комы. Нарастает общая слабость, отмечается атрофия мышц, одутловатость лица, сухость кожных покровов с зудом, точечные кровоизлияния, сонливость, апатия, возможно развитие перикардита, миокардита, отека легких, кровотечения, вызванные патологией гемостаза, содержание билирубина – более 300 ммоль/л (при отсутствии препятствия оттоку жел-

чи), АЛАТ > 10 ммоль/(ч·л), наблюдаются повышение билирубина (более 50 ммоль/л в сут), печеночная кома, кровотечение, концентрация мочевины плазмы крови возрастает до 25 ммоль/л и выше, креатинин – более 0,80 ммоль/л, калий – более 6,5 ммоль/л, нарастают дисэлектролитемия и нарушение всех видов обмена.

3.2. Лабораторная диагностика иммунометаболических нарушений

Помимо клинических исследований большое значение имеет лабораторная диагностика, основной целью которой является подтверждение и/или идентификация иммунных нарушений. Идеально иммунодиагностика строится на определенном алгоритме тестов, подбираемом строго индивидуально для каждого больного на основании клинической картины и предполагаемого диагноза [Хаитов Р.М. и др., 2009]. В практике используется большое количество лабораторных методов исследования иммунной системы человека, еще больше методов используется при проведении научных исследований [Хаитов Р.М. и др., 2009]. Нередко рекомендуемые методы являются дорогостоящими и сложными, поэтому лабораторную диагностику необходимо проводить с учетом клинических данных. Также не следует пренебрегать общеклиническими исследованиями (развернутый анализ крови, биохимические исследования), которые часто несут большой объем информации. Для уточнения клинического диагноза имеет смысл выделить количественные и качественные тесты оценки клеточного и гуморального звена врожденного и адаптивного иммунитета. Общепринято исследования иммунной системы разделить на несколько этапов. На первом этапе в практике проводился комплекс исследований, характеризующих фагоцитоз, цитокиновое звено, субпопуляционный состав лимфоцитов, гуморальный и клеточный иммунитет, т.е. практически всю иммунную систему, сравнивая это с нормативными показателями. Это исследование получило название «иммунный статус».

Изначально такая диагностика показала свою эффективность при диагностике первичных иммунодефицитов. И, действительно, при наличии клинической картины первичных иммунодефицитов морфологические изменения заболеваний самой иммунной системы возможно и необходимо выявлять. Подобная же диагностика эффективна и при других заболеваниях иммунной системы (лимфопролиферативных, ВИЧ-инфекция и пр.). Аналогичные исследования оказались полезными при изучении иммунотропных препаратов, при определении тяжести, продолжительности и исхода заболевания, при экологических и других научно-исследовательских работах.

Гораздо сложнее с диагностикой вторичной иммунологической недостаточности. Минимальный набор тестов, как правило, недостаточен для

выявления их причин, поэтому традиционно как за рубежом, так и в России, учитывая сложность и высокие материальные затраты, исследования иммунитета является этапным. На первом этапе проводятся исследования, направленные на идентификацию грубых поломок иммунной системы. В последующем углубленно оценивается функциональное состояние иммунной системы, определяются механизмы поломок в иммунной системе, ведущие к развитию заболевания [Петров Р.В. и соавт., 2009]. Однако многолетние поиски конкретных поломок в иммунной системе в виде дефицитов или других дефектов компонентов при различных хронических, рецидивирующих, затяжных воспалительных процессах, да и при онкологических и других тяжелых заболеваниях успехом так и не увенчались. Это дало основание сделать вывод, что определение иммунологических показателей (иммунного статуса) не имеет диагностического значения и может применяться для оценки тяжести течения заболевания и эффективности его лечения, а также в научно-исследовательских целях. Подобные выводы поставили задачу о необходимости разработки методов диагностики по выявлению определенных дефектов иммунитета при заболеваниях внутренних органов, т.е. диагностики не заболеваний, а дисфункций иммунной системы.

С патогенетических позиций А.Н. Чередеев и Л.В. Ковальчук предлагают в процессе развития иммунного ответа выделить этапы (распознавание, активация, пролиферация, дифференцировка и регуляция) и характеризовать именно их, предлагая для оценки определенные методы. Подобные лабораторные тесты предлагают и другие авторы. Так, Р.В. Петров и соавт. [2009] с позиций системно-функционального подхода к иммунодиагностике заболеваний иммунной системы предлагают оценивать способность каждого звена иммунной системы. Фагоцитоз – по способности поглощения, внутриклеточного киллинга и переваривания микробов, гуморальный иммунитет – по тому, как синтезируется нормальное количество основных классов иммуноглобулинов, способных осуществлять свои эффекторные функции. Главный показатель клеточного иммунитета – способность антигенспецифических Т-лимфоцитов распознавать и уничтожать чужеродные клетки.

В последние годы в связи с развитием молекулярно-генетических исследований активно развиваются методы исследования по изучению апоптоза, субпопуляций лимфоцитов, экспрессии и функциональной активности TLR- и NOD-рецепторов, адапторных белков, киназ и транскрипционных факторов, передающих сигнал с поверхности в ядро клетки и т.д..

Все эти показатели сравниваются с данными, полученными у здоровых людей. Это вполне естественно, поскольку отклонение от нормы сигнализируют о наличии патологии. Однако при иммунологических исследованиях отмечены три разновидности изменений:

1. Клинически выявленные иммунные нарушения сопровождались лабораторными данными, полученные при исследовании иммунной системы. Показатели отклонялись от нормы. Аналогичные изменения характерны для болезней иммунной системы.
2. При клинических признаках иммунных нарушений лабораторные показатели не отличались от нормы.
3. Выявленные лабораторные показатели с отклонения от нормы при полном отсутствии клинических признаков иммунологической недостаточности.

Однако иммунный ответ – это о реакция организма на патологический фактор, направленный на нейтрализацию и элиминацию его из организма, сопровождающийся метаболической активацией клеток иммунной системы, увеличением их количества и синтезом ими биологически активных молекул (антитела, цитокинов и пр.). Если патоген по своим патогенным свойствам не выходит за пределы защитных возможностей иммунной системы, то заболевание не развивается и показатели иммунной системы после реагирования стремятся к норме.

При иммуноопосредованных заболеваниях, с которыми встречается клиницист, все гораздо сложнее. Заболевание – неадекватная адаптация иммунной системы к патогену, т.е. неадекватное реагирование на патоген. И наличие нормальных показателей, прежде всего эффекторных, при клинически выраженной дисфункции отдельных звеньев иммунной системы будут свидетельствовать об отсутствии адекватного ответа, т.е. о нарушении. При этом резервы иммунной системы – очень мощные и отдельные ее звенья могут компенсировать недостаточность других, поэтому дефект какого-то определенного звена иммунной системы может долго не проявляться, а иногда и в течение всей жизни.

Учитывая, что в основе реакций иммунной системы лежат эффекторные, деструктивные реакции они так же не всегда адекватны. И тогда альтерация органов и тканей происходит за счет иммунных реакций, что лежит в основе патогенеза аутоиммунных, аллергических и хронических инфекционно-воспалительных заболеваний. Эти же реакции, несмотря на их функциональную целесообразность, например при сепсисе, могут ухудшать состояния больного.

Несмотря на то что все лимфоциты, а особенно Т-клетки, постоянно циркулируют и срок жизни у всех клеток разный (от 5–10 дней у НК-клеток до 30 лет у Т-клеток памяти), численность клеток каждого типа в различных органах и тканях, и в том числе и в периферической крови, строго контролируется гомеостатическими механизмами. Это происходит за счет лимфоцитарных ниш – микроанатомических структур периферического отдела иммунной системы, способных привлекать мигрирующие лимфоциты и обеспечивать их выживание за счет необходимых питательных и энергетических ресурсов. Замещение отмирающих клеток происхо-

дит за счет лимфопоэза и в меньшей степени – за счет спонтанной (фоновой) пролиферации клеток (не более 1 %). Снижение числа клеток после иммунной активации сопровождается активным увеличением числа клеток, происходит за счет последней фазы клеточного цикла после выполнения своей функции, запрограммированной гибелью – апоптозом.

Понимание природы и механизмов гомеостатического контроля численности лимфоцитов в популяциях и субпопуляциях очень важно для правильного истолкования ее изменений при патологиях и разработке путей ее коррекции, поэтому определение общего количества различных популяций клеток иммунной системы является весьма важным.

В количественных тестах определяются общее число различных видов клеток и концентрация гуморальных факторов иммунной системы (иммуноглобулины, цитокины и т.д.). В качественных исследованиях оценивается функциональная активность и адаптационные резервы иммунной системы. При этом необходимо помнить, что при гипореактивных нарушениях функции иммунной системы лабораторные показатели в пределах среднестатистических показателей здоровых людей подтверждают наличие патологии, т.е. свидетельствуют о ареактивности пациента на антигенчужеродный агент. Так, сниженные или «нормальные» показатели абсолютного числа лейкоцитов и лимфоцитов и их популяций и субпопуляций при различных инфекциях служат подтверждением наличия у пациента нарушения функции иммунной системы.

Необходимо учитывать также, что система иммунитета – сложнейшая многоуровневая и многокомпонентная структура, постоянно находящаяся в изменении, ее параметры значительно меняются в течение нескольких часов, поэтому клинические проявления имеют приоритетное значение. Лабораторные показатели обычно служат подтверждением ранее установленного клинического диагноза, во избежание ложных выводов желательно проводить исследования иммунной системы в динамике. Такой подход позволит индивидуально подойти к лечению больных с иммунными нарушениями.

3.2.1. Оценка показателей клеточного иммунитета

Первым этапом лабораторной диагностики является количественная оценка клеток периферической крови и их морфологических элементов — подсчет лейкоцитарной формулы. При этом анализе следует обращать внимание не только на относительное, но и на абсолютное число клеток крови. При определении нормальных показателей формулы крови в относительных значениях пересчет в абсолютные значения может выявлять патологию и наоборот.

Количество лейкоцитов и других клеток крови зависит от скорости выхода клеток из костного мозга и притока их в ткани. Число лейкоцитов в периферической крови выше 10×10^9 клеток/л определяется как лейкоцитоз, ниже 4×10^9 кл./л – как лейкопения. Основные причины лейкоцитоза – все виды инфекций, воспалительные состояния, злокачественные новообразования, травмы, лейкозы, уремия, действия адреналина и стероидных гормонов. Лейкопения встречается при аплазии и гипоплазии красного костного мозга, гиперспленизме, острых лейкозах, миелофиброзах, плазмоцитоммах, метастазах новообразования в костный мозг, тяжелых инфекциях, коллагенозах (неблагоприятный признак), под действием лекарственных средств.

Известны различные отклонения лейкоцитарной формулы, которые могут свидетельствовать в комплексе с другими лабораторными данными о различных патологических состояниях.

Лейкоцитоз со сдвигом влево может наблюдаться при бактериальных инфекциях (неспецифических и специфических), интоксикациях (отравлении угарным газом, грибами и пр.), коматозных состояниях (уремия, диабетическая, печеночная и др.), после острых кровопотерь, во время гемолитического криза. Так же выявляется на ранних этапах послеоперационного периода, после больших хирургических вмешательств, во время и после родов, при злокачественных новообразованиях, лейкозах, лучевой болезни (на ранней фазе массивного радиационного поражения).

Лейкоцитоз со сдвигом вправо может наблюдаться при вирусных и хронических бактериальных (туберкулез, сифилис, бруцеллез и пр.) инфекциях, дефиците фолиевой кислоты, лучевой болезни, сепсисе.

Нейтропения обычно сочетается с лейкопенией при тяжелых и вирусных инфекциях, аутоиммунных и лекарственных лейкопениях, В₁₂-дефицитных анемиях, гипоксии, голодании, авитаминозе.

Эозинофилия выявляется при аллергических заболеваниях (бронхиальной астме, лекарственной аллергии и др.), глистной инвазии, кожных, аутоиммунных и инфекционных заболеваниях в период развития клинической картины и на этапе выздоровления, при злокачественных новообразованиях, при лимфогранулематозе.

Эозинопения имеет место при стрессовых ситуациях, острых инфекциях, интоксикациях, шоке, инфаркте миокарда.

Базофилия встречается при лечении гепарином, введении сыворотки, диабете, микседеме, нефрозе, в предменструальный период, при аутоиммунной тромбоцитопении, хроническом миелолейкозе, миелофиброзе, эритремии.

Абсолютный лимфоцитоз наблюдается у детей до 4 лет как физиологическое состояние. У взрослых увеличение числа лимфоцитов наблюдается при инфекционных заболеваниях вирусной этиологии, при хроническом лейкозе.

Лимфопения обнаруживается при лучевой болезни, СПИДе, хроническом алейкемическом миелолейкозе.

Моноцитопения – при тяжелых гипертоксических формах брюшно-го тифа и других инфекционных заболеваниях и является одним из признаков нарушения процессов регенерации.

Моноцитоз – при ревматизме, особенно в период обострения, бруцеллезе, сифилисе, туберкулезе, инфекционном мононуклеозе, может наблюдаться у новорожденных детей.

Появление в периферической крови плазматических клеток свидетельствует о напряженности иммунного процесса, например при детских инфекциях (корь, краснуха, паротит, инфекционный мононуклеоз), у взрослых – при ОРВИ, гриппе, лучевой болезни, лейкозах, гепатите.

Более подробно оценить клеточный состав можно при дополнительных исследованиях, и, прежде всего, используя методы проточной лазерной цитометрии. Это технология быстрого измерения различных характеристик клеток или их органелл. Клеточная суспензия, предварительно меченная флуоресцирующими моноклональными антителами или флуоресцентными красителями, подается к потоковому элементу. Клетки идут одна за другой, где в проточной ячейке их пересекает лазерный луч, под действием которого окрашенные клетки флуоресцируют. Далее через оптическую систему излучение попадает на регистрирующее устройство, где в дальнейшем обрабатывается. С помощью проточной цитометрии можно определить размеры клетки, соотношение ядра и цитоплазмы, степень асимметричности и интенсивность флуоресценции. Допускаются проведения окрашивания до десяти меток на одной клетке. При исследовании допустима оценка свойств от нескольких десятков до нескольких миллионов клеток.

Область применения проточной цитометрии весьма разнообразна. Помимо морфологических характеристик клеток с помощью моноклональных антител можно достоверно определять популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов, выявлять стадию дифференцировки и активации клеток, оценивать уровень функциональной активности лимфоцитов, определять внутриклеточные и секретируемые цитокины, проводить исследования фагоцитоза, анализировать клеточный цикл, оценивать апоптоз и пролиферацию. Основные популяции лимфоцитов периферической крови здоровых лиц представлены в табл 3.2. Эти показатели можно считать нормативными при проведении иммунологических исследований.

Т а б л и ц а 3.2

Интервалы распределения основных и малых популяций лимфоцитов в периферической крови практически здоровых лиц
[Хайдуков С.В. и др., 2009]

Популяции и субпопуляции лимфоцитов	Содержание	
	Относительное, %	Абсолютное, $\times 10^9/\text{л}$
В-клетки (CD3 ⁻ CD19 ⁺ HLA-DR ⁺ CD45 ⁺)	7,0 – 17,0	0,111 – 0,376
В1-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁺ CD27 ⁻ CD45 ⁺)	0,5 – 2,1	0,022 – 0,115
В2-клетки (CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁻ CD45 ⁺)	6,5 – 14,9	0,081 – 0,323
В-клетки памяти (CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺ CD45 ⁺)	1,8 – 6,8	0,012 – 0,040
НК-клетки (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD45 ⁺)	8,0 – 18,0	0,123 – 0,369
НК-клетки цитолитические (CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ^{dim} CD45 ⁺)	0,2 – 1,0	0,003 – 0,022
НК-клетки цитокин-продуцирующие (CD3 ⁻ CD16 ⁻ CD56 ^{bright} CD45 ⁺)	7,8 – 17,0	0,120 – 0,347
TNK-клетки (CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD3 ⁺ CD45 ⁺)	0,5 – 6,0	0,007 – 0,165
T-клетки (CD3 ⁺ CD19 ⁻ CD45 ⁺)	61,0 – 85,0	0,946 – 2,079
T-хелперы (CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD45 ⁺)	35,0 – 55,0	0,576 – 1,336
T-цитотоксические (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD4 ⁻ CD45 ⁺)	19,0 – 35,0	0,372 – 0,974
T-хелперы активированные / памяти (CD4 ⁺ CD45R0 ⁺ CD45RA [±] CD45 ⁺)	5,0 – 25,0	0,068 – 0,702
T-хелперы нативные (CD4 ⁺ CD45RA ⁺ CD45R0 ⁻ CD45 ⁺)	20,0 – 40,0	0,272 – 1,123
T-лимфоциты активированные (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ CD25 ⁺ CD45 ⁺)	0,5 – 6,0	0,007 – 0,165
Регуляторные T-лимфоциты (CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ⁻ CD45 ⁺)	1,6 – 5,8	0,009 – 0,078
Индекс соотношения (T-хелперы / T-цитотоксические)	1,5 – 2,6	

Снижение абсолютного количества T-лимфоцитов свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета (недостаточность клеточно-эффекторного звена иммунитета). Встречается довольно часто при различных инфекциях, неспецифических воспалительных процессах, злокаче-

ственных опухолях, в постоперационный период, при инфаркте и т.д. Повышение числа Т-лимфоцитов в динамике заболевания – клинически благоприятный признак. Полное завершение болезни обычно сопровождается и нормализацией количества Т-лимфоцитов.

Увеличение абсолютного числа CD4⁺-лимфоцитов свидетельствует о стимуляции иммунной системы на какой-либо антиген и служит подтверждением гиперреактивных синдромов. Однако необходимо иметь в виду, что их увеличение – чаще всего не что иное, как нормальная физиологическая реакция на антиген, что мы и наблюдаем при специфических и неспецифических инфекционных заболеваниях. Пролиферация CD4⁺Т-лимфоцитов продолжается 3–5 сут после активации. Она обеспечивает умножение численности клеток в клонах, вовлекаемых в иммунный ответ – пролиферативную экспансию клонов. Т-клетки проходят 6–8 делений, что обеспечивает увеличение их числа примерно в 100–200 раз. Так, если исходную численность Т-клеток в клоне можно оценить у человека примерно в 2×10^3 (исходя из оценки общего числа Т-хелперов – в 7×10^{10} и возможного числа клонов – в 3×10^7), то после пролиферации их число может превысить 10^6 . Это обеспечивает должную эффективность иммунного ответа, поскольку формирование активных Т-хелперов необходимо для успешной реализации практически всех его ветвей. Снижение числа Т-хелперов свидетельствует о гипореактивном синдроме с нарушением регуляторного звена иммунитета. Особенно наглядно это определяется при ВИЧ-инфекции.

Повышение количества цитотоксических Т-лимфоцитов определяется практически при всех вирусных, бактериальных, протозойных инфекциях. Относительное увеличение числа CD8⁺-клеток обычно обусловлено уменьшением количества Т-хелперов, хотя такую закономерность наблюдают не всегда. Это связано с тем, что цитотоксические Т-лимфоциты синтезируют ИФН- γ , который угнетает пролиферацию Th₂-клеток, и с тем, что ранее CD8⁺-лимфоциты расценивались как Т-супрессоры. Уменьшение количества цитотоксических Т-лимфоцитов служит подтверждением недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета, что особенно важно при лечении хронических вирусных инфекций (вирусные гепатиты, герпес и пр.).

Количество В-лимфоцитов в периферической крови определяется с помощью CD19-маркера, который присутствует на всех В-клетках периферической крови, но отсутствует на плазматических клетках.

НК-лимфоциты с диагностической точки зрения имеют два важных CD-маркера – 16 и 56. Общее количество их в крови составляет: CD16⁺-клеток – 6–26 %, CD56⁺-клеток – 7–31% ($0,09–0,6 \times 10^9$ /л). Снижение количества этих клеток – патогномичный признак клеточно-эффекторного иммунодефицита, обусловленный тяжестью течения онкологических и вирусных инфекций, наблюдается и при приеме иммунодепрессантов. Уве-

личение количества НК-клеток связано с активацией анти-трансплантационного иммунитета, в некоторых случаях отмечается при бронхиальной астме, т.е. является патогномичным признаком клеточно-опосредованной цитотоксичности.

На сегодняшний день теряет свой клинический смысл, так называемый ранее регуляторный (дифференцировочный) индекс – соотношение $CD4^+$ - и $CD8^+$ -лимфоцитов. Считается, что значение этого индекса ниже 1,0 соответствует иммунодефициту, более 2,5 – гиперактивности. С современных позиций интерпретировать этот показатель таким образом в настоящее время будет неправильно. Более информативным для таких выводов служит абсолютное число субпопуляций Т-лимфоцитов и маркеры активации.

Проявлением активации служит экспрессия на клетках различных маркеров активации. Так, на Т-лимфоцитах после действия стимуляции уже через 2–3 ч на поверхности появляется CD69 – самый ранний активационный антиген, частично мобилизуемый из внутриклеточных депо, а частично экспрессируемый *de novo*. Его экспрессия продолжается немногим более суток. Вскоре после CD69 на поверхности клетки появляется другой ранний маркер активации – CD25. Следующие проявления активации наблюдают через сутки после действия стимулятора, когда экспрессируется молекула рецептора для трансферрина (CD71). В последующие дни (3–6 сут) экспрессируются молекулы МНС-II, относимые к поздним маркерам активации Т-клеток, а затем – интегрины, обозначаемые как очень поздние активационные антигены VLA (Very late activation antigens), и секретируются хемокины. Эти поздние проявления активации клеток совмещаются с пролиферативным процессом.

О функциональном состоянии Т-лимфоцитов свидетельствует количество клеток, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2 ($CD25^+$ -лимфоциты). В норме в крови их относительное число составляет 13–24 %. При гиперреактивных синдромах количество этих клеток возрастает, при иммунодефицитах – снижается. Показателем гиперреактивности иммунитета является также количество лимфоцитов, несущих два рецептора – CD3 и HLA-DR. В норме их должно быть не более 12 %.

В настоящее время типизируются и другие маркеры, их сейчас насчитывается около 263 разновидностей. Особенно это важно в онкогематологии для уточнения диагноза.

Помимо определения количественного состава клеток иммунной системы очень важно дать качественную характеристику их функциональной активности. Благодаря применяемой в последнее время многоцветной проточной цитометрии, по наличию тех или иных рецепторов можно оценить функциональную активность клеток. С клинической точки зрения наиболее важны следующие рецепторы:

CD5 – молекула адгезии, регулирует активацию клеток. Определяется на Т-лимфоцитах, тимоцитах, В1-клоне В-клеток;

CD11b – относится к наиболее важным для миграции клеток интегринам, которые определяют активность фагоцитоза, клеточной цитотоксичности, хемотаксиса и клеточной активации Т-эффекторов, НК-клеток, макрофагов и гранулоцитов;

CD16 – является рецептором Fc-фрагмента IgG, опосредует фагоцитоз и антителозависимую клеточную цитотоксичность, при его активации усиливается цитотоксичность НК-клеток, стимулируется секреция интерферона и фактора некроза опухоли;

CD23 – экспрессируется на активированных В клетках, макрофагах, клетках тимического эпителия, эозинофилах, тромбоцитах. Показатель активности В-клеток.

CD25 – α -цепь рецептора ИЛ2. Экспрессируется на различных типах клеток периферической крови: CD4⁺-, CD8⁺-, НК-лимфоцитах, НКТ-клетках, В-лимфоцитах, моноцитах. Маркер ранней активации Т-лимфоцитов. Повышение их количества, также как и общей популяции CD25-позитивных лимфоцитов, может свидетельствовать о воспалительном процессе любой природы (инфекционный, аутоиммунный);

CD27 – дополнительный маркер В2-лимфоцитов. Указывает на переход В-лимфоцитов из наивных клеток в клетки памяти;

CD28 – экспрессируется на большинстве активированных Т-лимфоцитах, НК-клетках и плазматических клетках. Необходим как ко-стимулирующий фактор для индукции иммунного ответа (пролиферации и активации клеток);

CD38 – циклическая АДФ-рибозилгидролаза, находится на поверхности лимфоцитов, обеспечивает адгезию, передачу сигнала, является также маркером активации клеток (метаболический маркер). Понижается при ВИЧ-инфекции, лейкемии, миеломе, солидных опухолях, диабете II типа;

CD50 – межклеточная молекулы адгезии (ICAM-3), помимо этого является мощной сигнальной молекулой. Представлена на всех лейкоцитах, эндотелиальных и дендритных клетках. Обеспечивает костимуляторные сигналы для Т-клеток и регулирует адгезию клеток путем взаимодействия с интегринами. Показано снижение количества CD50⁺-клеток при опухолевых заболеваниях;

CD57 – экспрессируется на субпопуляциях 15–20% мононуклеарных клеток периферической крови, у 60% НК- и Т-клеток. Повышение показателей определяется у онкологических больных, больных после трансплантации, у пациентов с ВИЧ, а также с ревматоидным артритом и синдромом Фелти. Снижение патогномично при хронизации болезни Лайма;

CD62L – представитель семейства молекул клеточной адгезии (L-селектин), находящийся на клеточной поверхности лейкоцитов (Т- и НК-

клетки, моноциты, гранулоциты), обеспечивает транслокацию лейкоцитов из крови в лимфоидную ткань, где они взаимодействуют с антигеном;

CD64 – посредник антителозависимой клеточной цитотоксичности (функциональный маркер);

CD158a – важный функциональный маркер NK-активности;

HLA-DR – экспрессируется различными клетками периферической крови. Определяется на всех В-лимфоцитах и моноцитах, на активированных Т-лимфоцитах (маркер поздней активации). Уровень экспрессии HLA-DR-рецептора на моноцитах менее 50 % является неблагоприятным патогномоничным признаком развития тяжелой бактериальной инфекции (сепсис, перитонит).

Для характеристики клеточного звена иммунной системы является важно определение концентрации цитокинов. Их идентификация в ряде случаев позволит более точно установить диагноз и механизм иммунного нарушения. Большое значение имеет определение таких провоспалительных цитокинов, как ФНО- α и - β , ИЛ-1 и ИФН- γ , особенно в этиопатогенезе различных острых и хронических воспалительных процессов как инфекционной, так и аутоиммунной природы. Их повышенное образование – главная причина септического шока. При сепсисе уровень ФНО в крови может достигать 1 нг/мл. Накапливаются данные о роли провоспалительных цитокинов в этиопатогенезе неспецифического язвенного колита, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, инсулинзависимого диабета и др. Существенным является их определение у больных с соответствующим врожденным иммунодефицитом. И если раньше тесты на определение цитокинов были полезны только в научно-исследовательских целях, в настоящее время они становятся важными показателями для выявления течения заболевания и тактики лечения (особенно при применении методов цитокинотерапии).

Таким образом, лабораторное исследование состояния клеточного звена иммунной системы позволяет уточнить уровень нарушения иммунитета и в последующем проводить эффективную иммуноактивную терапию.

3.2.2. Оценка показателей гуморального иммунитета

Определение уровня иммуноглобулинов – это, по-прежнему, важный и надежный метод оценки гуморального иммунитета. Его можно считать главным методом диагностики всех форм иммунодефицитов, связанных с недостаточностью биосинтеза антител, т.е. с пластическим звеном метаболизма В-клеток. Изменения концентрации иммуноглобулинов служат подтверждением гуморально-ассоциированной иммунопатологии. Снижение такой концентрации в сыворотке крови больных может свидетельствовать о различных патологиях – от генетических дефектов синтеза иммуногло-

булинов до транзиторных состояний, связанных с потерей белка организмом (гуморально-эффекторный иммунодефицит). Повышение концентраций относительно нормативных значений свидетельствует о наличии аллергических, аутоиммунных процессов (антителозависимая цитотоксичность), оно характерно для инфекционных заболеваний на определенных этапах их развития (увеличение IgM в острый период заболевания и/или обострения хронической инфекции, IgG в стадии разрешения и/или формирования хронической инфекции). Кроме того, указанный метод является критерием эффективности проводимого лечения, в том числе заместительной терапии иммуноглобулин-содержащими препаратами.

Определение субклассов IgG представляет диагностическую ценность, так как при нормальном его уровне могут быть дефициты по субклассам иммуноглобулинов. У таких людей в ряде случаев наблюдаются иммунодефицитные состояния, проявляющиеся в повышенной частоте инфекционной заболеваемости. Так, IgG₂-субкласс иммуноглобулина G преимущественно содержит антитела против полисахаридов инкапсулированных бактерий (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*), поэтому дефицит, связанный с IgG₂, а также с IgA, ведет к повышенной заболеваемости респираторными инфекциями. Нарушения в соотношении субклассов IgA и в соотношении каппа- и лямбда-цепей также могут быть причиной иммунодефицитных состояний.

Уровни сывороточных иммуноглобулинов, характерные для взрослых (IgM, IgG₁, IgG₃), достигают нормальных значений уже в раннем постнатальном периоде. Концентрации IgG₂, IgG₄, IgA не достигают нормы даже в период полового созревания. Распределение субклассов IgG в сыворотке крови взрослого человека следующее: IgG₁ – 60–65 %, IgG₂ – 20–25 %, IgG₃ – 10–20 %, IgG₄ – 10–20 %. Наиболее часто у больных имеются ассоциации дефицитов IgG₂, IgG₄, IgA и IgE. Определение уровня субклассов IgG существенно при повышенной чувствительности к бактериальным инфекциям. Дефициты установлены практически для всех иммуноглобулинов. Наиболее значим дефицит IgG₂, который часто сочетается с полным отсутствием IgA.

Важную информацию о состоянии гуморального иммунитета дает определение специфических антител к различным антигенам, так как степень защиты организма от данной конкретной инфекции зависит не от общего уровня иммуноглобулинов, а от количества специфических антител к ее возбудителю. В настоящее время существует большое количество тест-систем по распознаванию уровня антител к бактериальным, вирусным, грибковым инфекциям и инвазиям. Нет необходимости их перечислять.

Определение общего уровня IgE существенно для дифференциальной диагностики atopических заболеваний наряду с IgG₄. Высокий уровень IgE в пуповинной крови может быть полезен как индикатор высокого риска atopических заболеваний.

Аутоиммунный процесс может диагностироваться у больных при обнаружении в сыворотке крови тех или иных аутоантител. В противном случае аутоиммунный генез заболеваний может быть исключен, что окажет существенное влияние на ход дальнейших исследований и тактику лечения. Нахождение в сыворотке крови антител к нативной и денатурированной ДНК проводится также методом ИФА на твердофазном носителе. ДНК как антиген сорбирована на пластике, с этим антигеном специфически взаимодействуют аутоантитела к ДНК, содержащиеся в исследуемой сыворотке. Выявление аутоантител к нативной и денатурированной ДНК имеет диагностическое значение при системных заболеваниях соединительной ткани, активных воспалительных процессах, хронических гепатитах, инфекционном эндокардите и других заболеваниях, сопровождающихся аутоиммунными процессами. Наличие аутоантител к ДНК при различных заболеваниях наряду с клиническими проявлениями может служить доказательством аутоиммунного процесса.

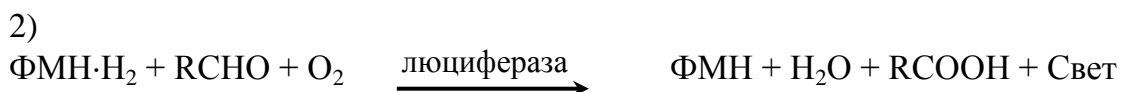
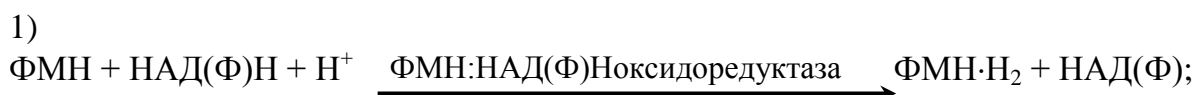
Метод ИФА позволяет находить органоспецифические аутоантитела к антигенам тканей сердца, легких, почек, печени, толстой и тонкой кишки, а также к органонеспецифическим антигенам, таким как эластин и коллаген.

3.2.3. Изучение метаболизма клеток иммунной системы

Метаболизм клеток иммунной системы может быть исследован широким спектром аналитических методов. Однако спектрофотометрический метод как наиболее широко используемый в лабораторной диагностике не всегда может быть применим из-за большого объема исследуемого материала. В связи с этим, остановимся на описании двух видов анализа – оптимальных к применению для определения активности ферментов в клетках иммунной системы – это билюминесцентный и цитоморфоденситометрический анализ.

Под люминесценцией понимается широкий ряд реакций, в которых возбужденные молекулы переходят в основное состояние с испусканием кванта света. При билюминесценции образование электронно-возбужденного состояния одной из молекул, участвующей в процессе, происходит с помощью ферментативной реакции [Светящиеся бактерии, 1984].

Глубокое изучение биологии светящихся бактерий и химизма их свечения, проведенное в Институте биофизики СО РАН (г. Красноярск), позволило разработать методы бактериального культивирования, а также выделения и очистки ферментов билюминесцентной системы [Светящиеся бактерии, 1984]. Сопряженная билюминесцентная система светящихся бактерий осуществляет следующую цепь ферментативных реакций:



RCHO – алифатический альдегид;

RCOOH – жирная кислота.

Таким образом, все ферментативные реакции, в процессе которых происходит наработка или утилизация субстратов или кофакторов данной биферментной системы, могут быть исследованы с помощью билюминесцентных методов. В перечень определяемых билюминесцентным методом ферментов, субстратов и кофакторов можно также включить показатели, которые могут быть исследованы с помощью сопряженных реакций.

Перспективность применения билюминесцентных методов исследования определяется несколькими факторами: 1 – конечным продуктом люциферазной реакции является свет, который легко и с большой точностью измеряется при помощи современной электронно-оптической техники. Пределы обнаружения АТФ и НАДН составляют соответственно 10^{-10} и 10^{-16} моль/л [Светящиеся бактерии, 1984; Тюлькова Н.А., Антонова Э.В., 1991]. Билюминесцентный метода анализа НАДН обладает в 25000 раз более высокой чувствительностью по сравнению со спектрофотометрией; 2 – в основе светоизлучения лежат ферментативные реакции, что определяет высокую специфичность метода; 3 – экспрессность и высокая чувствительность метода позволяет проводить исследования в микрообразцах биологического материала с минимальным количеством реактивов. Это не только снижает стоимость исследования, но и позволяет использовать билюминесцентный метод в клинической практике.

Таким образом, перечисленные преимущества билюминесцентных методов определяют ценность их применения в медико-биологических исследованиях для выявления и тестирования различных метаболических параметров, имеющих диагностическую и прогностическую значимость.

Нами разработаны билюминесцентные методы определения активности следующих НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (ГЗФДГ, КФ 1.1.1.8), малик-фермент (НАДФМДГ, КФ 1.1.1.40), НАД- и НАДН-зависимые реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ, КФ 1.1.1.27), НАД- и НАДН-зависимые реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ- и НАДФН-зависимая глутаматдегидрогеназа (НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД- и НАДН-зависимая глутаматдегидрогеназа (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, КФ 1.4.1.2), НАД- и НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогена-

за (НАД-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФ-ИЦДГ, КФ 1.1.1.42 соответственно) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2). Билюминесцентное определене активности прямых (НАД- и НАДФ-зависимых) реакций указанных дегидрогеназ проводили следующим образом: 50 мкл суспензии разрушенных лимфоцитов (лимфоциты разрушали путем осмотического лизиса с добавлением дитиотреитола (ДТТ) $1,5 \times 10^{-3}$ М) вносили в 600 в 150 мкл инкубационной смеси, содержащей соответствующий субстрат в концентрации 10^{-5} - 10^{-2} М и кофермент в концентрации 10^{-6} - 10^{-2} М при рН 7,0-10,0 (в 0,1 М K^+ , Na^+ -фосфатном или трис-НСI-буфере). После инкубации при $37^{\circ}C$ в течение 30 мин к 200 мкл инкубационной смеси добавляли билюминесцентные реактивы: 50 мкл миристинового альдегида в концентрации 0,0005 %, 50 мкл флавиномононуклеотида (ФМН) – $1,5 \times 10^{-5}$ М и 50 мкл биферментного комплекса – НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза. Все реактивы билюминесцентной системы разведены в 0,1 М K^+ , Na^+ -фосфатном буфере с рН 7,0. После смешивания билюминесцентных реактивов и инкубационной пробы с помощью биохемилюминесцентного анализатора БЛМ-3607 (сконструирован в СКТБ “Наука”, г. Красноярск) производили измерение свечения.

Ферментативная система НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза изготовлена из очищенных методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из *Photobacterium leiognathi* и оксидоредуктазы из *Vibrio fischeri* в Институте биофизики СО РАН г. Красноярска [Тюлькова Н.А., Антонова Э.В., 1991].

Учитывая, что в клетках имеется определенное количество субстратов для течения различных метаболических реакций, в том числе и катализируемых исследуемыми ферментами, нами определялись показатели, условно названные “субстратный фон ферментов”. Определение проводили в тех же условиях, что и для вышеперечисленных дегидрогеназ, но в инкубационную смесь вместо соответствующего субстрата вносили буфер.

Активность прямых реакций НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ рассчитывали по формуле

$$A = \frac{\Delta[C] \times V \times 10^6}{T}$$

где $\Delta[C]$ – разница концентраций НАД(Ф)Н в пробах “фермент” и “фон фермента”; V – объем пробы в миллилитрах (0,65); T – время инкубации (30 мин).

Билюминесцентное определение активности обратных (НАДН- и НАДФН-зависимых) реакций дегидрогеназ проводили следующим образом: 50 мкл разрушенных лимфоцитов вносили в 150 мкл инкубационной смеси, содержащей соответствующий субстрат в концентрации 10^{-5} - 10^{-2} М и НАД(Ф)Н в концентрации 10^{-7} - 10^{-3} М при рН 7,0-9,8 в K^+ , Na^+ -фосфатном

или трис-НСI-буфере. После инкубации при 37⁰ С в течение 5 мин к 200 мкл инкубационной смеси добавляли биолюминесцентные реактивы (описаны выше) и проводили измерение свечения на биохемилюминесцентном анализаторе БЛМ-3607. Для определения количества окисленного в ходе дегидрогеназной реакции НАД(Ф)Н параллельно инкубировали контрольную пробу, содержащую те же реактивы, за исключением субстрата, замещенного буфером. Контрольная проба также учитывала окисление НАД(Ф)Н кислородом воздуха. Активность обратных реакций рассчитывали по вышеописанной формуле, где под [С] понимается разница в концентрациях восстановленного кофермента между контрольной и опытной пробами, найденная по калибровочному графику.

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10⁴ клеток, где 1 Е=1 мкмоль/мин [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998].

Для получения абсолютных значений активности необходимо построить график зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации НАД(Ф)Н (калибровочный график). Для этого 200 мкл стандартного раствора НАД(Ф)Н в диапазоне 10⁻⁹–10⁻⁴ М вносили в кювету биохемилюминесцентного анализатора, содержащие биолюминесцентные реактивы в концентрациях указанных выше, после чего производилось измерение интенсивности биолюминесценции. В связи с широким диапазоном рН буферов, используемых для определения дегидрогеназной активности, а также рН-зависимостью биолюминесценции ферментативной системы [Гительзон И.И. и др., 1984], калибровочные графики строились для каждого рН буфера. На рис. 3.2 представлен пример подобной зависимости.

Воспроизводимость метода оценивали путем определения активности каждого фермента не менее чем в 10 повторах. Ошибка метода не превышала 5%.

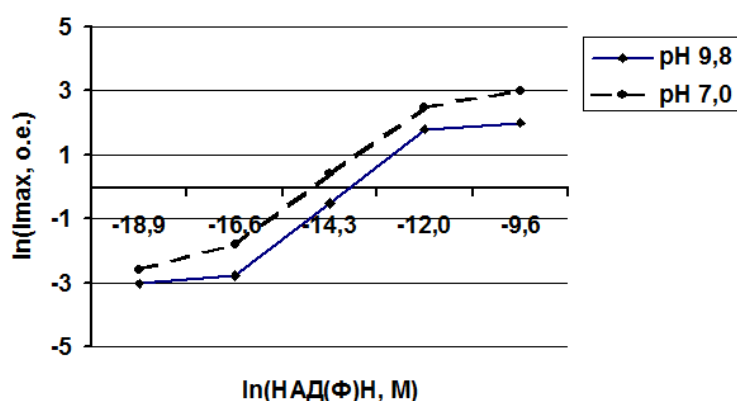
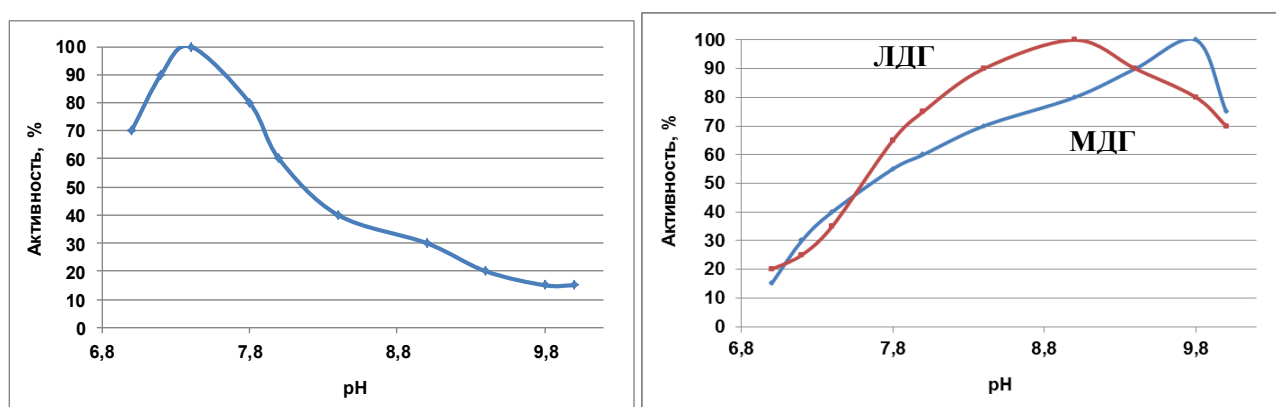


Рис. 3.2. Интенсивность биолюминесценции НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктазы-люциферазы в зависимости от концентрации НАД(Ф)Н и рН буфера.

Чувствительность биолюминесцентного метода к восстановленным пиридиннуклеотидам составила $2,0 \times 10^{-12}$ молей НАД(Ф)Н в пробе, что позволяет определять микроколичества НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ. При работе с чистыми растворами ферментов чувствительность биолюминесцентного метода достигала $3,0 \times 10^{-16}$ Е. рН-Оптимум НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в реакции по восстановлению кофермента отличается от рН-оптимума работы люминесцентной системы светящихся бактерий (рис. 3.3), в связи с чем нами и была проведена отдельная инкубация.



а

б

Рис. 3.3. Зависимость интенсивности биолюминесценции (а) и активности некоторых дегидрогеназ от рН среды.

Конкретные значения концентраций субстратов и кофакторов, а также рН среды для определяемых ферментов представлены в табл. 3.3.

Таким образом, разработан биолюминесцентный метод определения ряда НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови, которые характеризуют основные метаболические процессы в клетках.

Активность окислительно-восстановительных ферментов цикла Кребса, локализующихся в митохондриях, определяет состояние энергетики клетки. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) катализирует дегидрирование янтарной кислоты с образованием фумаровой кислоты. СДГ выявляется во всех видах лейкоцитов и бластных элементах костного мозга, α -глицерофосфат дегидрогеназа (α ГФДГ) митохондриальная участвует в транспорте водорода из гиалоплазмы в митохондрии, осуществляя «челночный механизм», координирующий в клетке процессы дыхания и гликолиза.

Т а б л и ц а 3.3

Концентрация субстратов, кофакторов и показатели рН для определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ биолюминесцентным методом

Фермент	Субстрат		Кофактор		рН буфера
	Название	мМ	Название	мМ	
Г6ФДГ	Г6Ф	1,5	НАДФ	0,025	9,8
Г3ФДГ	Г3Ф	0,5	НАД	0,35	9,8
ЛДГ	Лактат	2,0	НАД	0,50	9,0
МДГ	Малат	2,0	НАД	2,50	9,8
НАДФМДГ	Малат	7,5	НАДФ	0,375	9,8
НАДФГДГ	Глутамат	0,5	НАДФ	1,65	9,8
НАДГДГ	Глутамат	8,7	НАД	8,10	9,8
НАДИЦДГ	Изоцитрат	5,0	НАД	5,0	7,8
НАДФИЦДГ	Изоцитрат	1,375	НАДФ	0,075	7,4
НАДН-ЛДГ	Пируват	0,25	НАДН	0,005	7,0
НАДН-МДГ	Оксалоацетат	0,5	НАДН	0,005	7,0
ГР	GSH	0,5	НАДФН	0,0025	7,4
НАДФН-ГДГ	Оксиглутарат	100	НАДФН	0,0025	7,4
НАДН-ГДГ	Оксиглутарат	100	НАДН	0,0025	7,0

Примечание: среды с рН 9,0 и 9,8 готовили на Трис-НСI-буфере;
с рН 7,0, 7,4 и 7,8 – на K^+ , Na^+ -фосфатном буфере.

Для оценки активности СДГ, α ГФДГ и неспецифическая эстераза (НЭ) применяется метод компьютерной морфоденситометрии. Он основан на цифровой обработке изображений, что позволяет объективизировать исследования. Объект исследования характеризуется оптическими и геометрическими признаками. В результате исследования в качестве выходных данных получают морфоденситометрические параметры.

Для проведения измерений сначала вводится изображение, т.е. осуществляется вывод исходного изображения с телевизионной камеры, соединенной с микроскопом, на монитор (рис. 3.4). При этом получается оцифрованное исходное изображение анализируемого препарата – массив чисел, полученный по яркости исходного изображения. Изображение представляется в ЭВМ в виде первичной матрицы распределения интенсивностей. Матрица имеет размерность 256×256 элементов (пиксель). Каждый элемент матрицы представляет собой усредненную на площади 1 пиксель интенсивность. При этом интенсивность каждого ее элемента лежит в пределах от 0 до 255, т.е. всего 256 градаций полутонов серого при

квантовании по интенсивности от 0 – черное до 255 – белое (байт на точку).

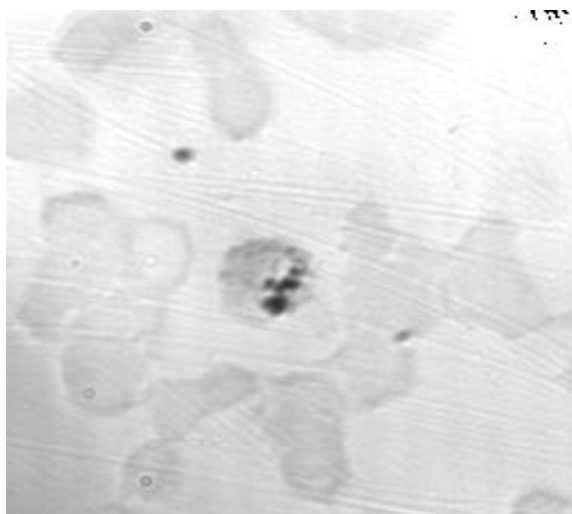


Рис. 3.4. Введенное с телевизионной камеры изображение цитохимически прокрашенного на сукцинатдегидрогеназу лимфоцита (в центре).

Из введенного фрагмента препарата выделяется интересующий объект, т.е. лимфоцит с черными гранулами формазана. В результате последовательного повторения этой операции составляется видеоархив препарата (рис. 3.5).

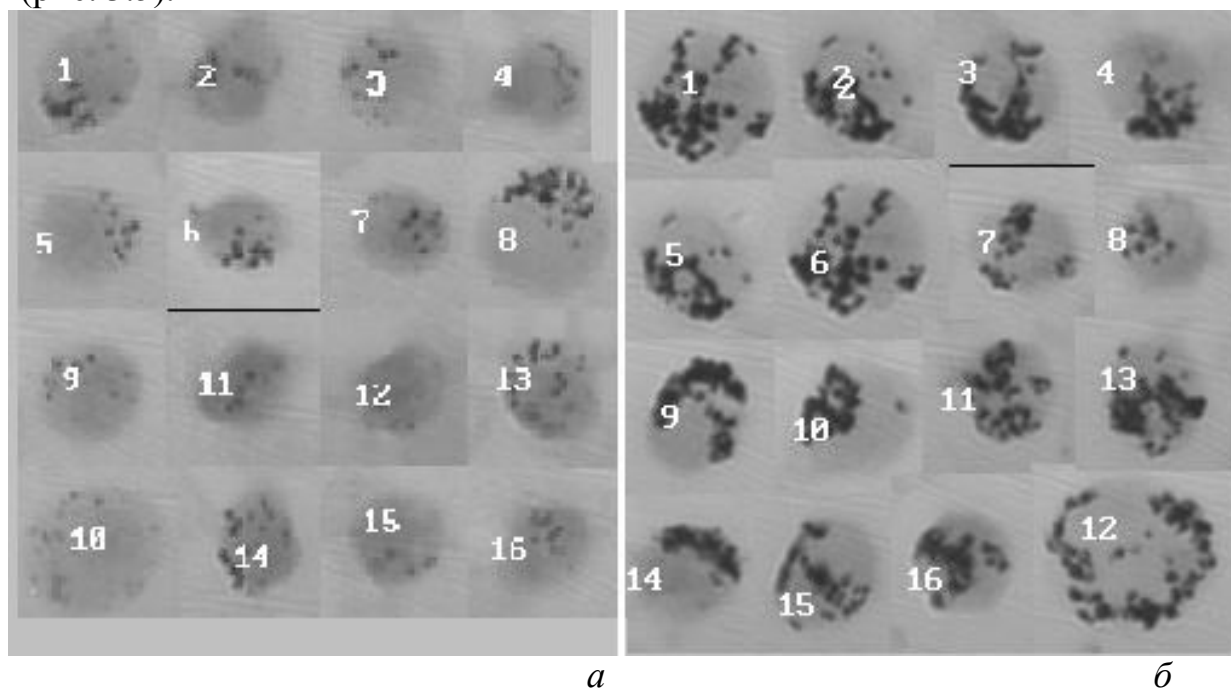


Рис 3.5. Видеоархивы: лимфоциты с гранулами формазана при реакции на α -глицерофосфатдегидрогеназу (а) и при определении сукцинатдегидрогеназы (б).

Затем проводятся операции, в результате которых одно изображение преобразуется в другое. Возможно преобразование полутонового изображения в оверлейное (бинарное). Оверлейное изображение имеет такую же пространственную размерность, как и само изображение – 256×256 , но каждый элемент оверлея может принимать только два значения – 0 или 1 (бит на точку).

На следующем этапе изображение подвергается процессу обработки. К наиболее важным операциям преобразования изображения относятся оцифровывание, кодирование и сжатие данных, улучшение качества и восстановление, сегментация, анализ изображений. Для улучшения качества изображения проводится цифровая фильтрация изображения (включает свыше 20 стандартных фильтров) и редактирование изображения. Результаты некоторых операций представлены на рис. 3.6.

Далее проводятся измерения заданных параметров. Полученные количественные данные сохраняются в файле. После этого на экран дисплея компьютера выводятся данные, содержащие результаты измерения данного объекта. Таким образом, ферментативная реакция оценивается количественно. С помощью камеры Горяева проведена модификация количественных параметров морфологических величин. Нами измерено, что при стандартно используемых характеристиках микроскопа (объектив $\times 100$, оптовар $\times 2,5$) $1 \text{ мм} = 13\ 110 \text{ пиксель}$ и $1 \text{ мм}^2 = 171\ 872\ 100 \text{ пиксель}^2$. Исходя из этого, морфологические параметры могут быть представлены в метрических величинах.

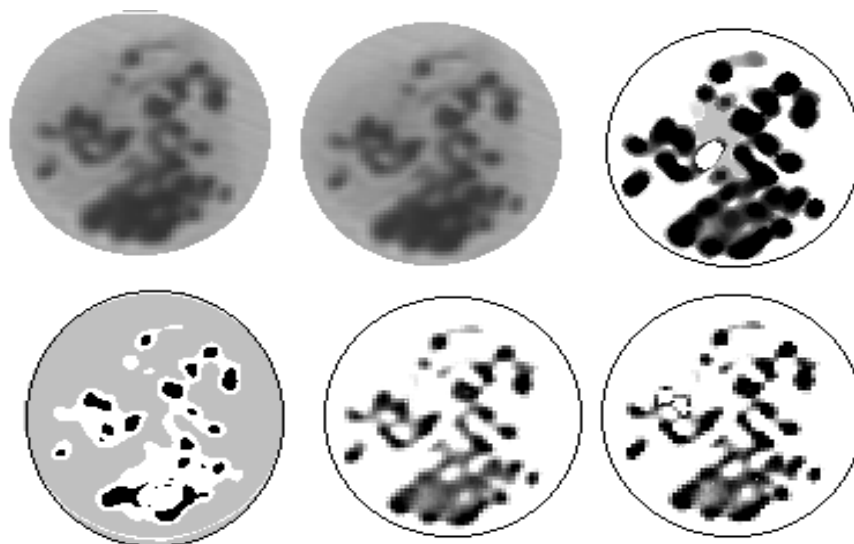


Рис. 3.6. Последовательный компьютерный анализ активности (по цитохимическому препарату) СДГ лимфоцитов здорового человека.

Глава 4. ЧАСТНАЯ ИММУНОМЕТАБОЛИМИКА В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

4.1. Особенности метаболизма лимфоцитов у больных раком легкого

Рак легкого является основной причиной смерти от злокачественных новообразований среди мужчин и женщин во всем мире [Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2002; Аксель Е.М., 2011; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2011]. Статистическое изучение факторов, влияющих на возникновение и течение болезни, свидетельствует о том, что табакокурение преобладает среди факторов, способствующих развитию рака легкого и представляет смесь физических и химических канцерогенов. Так же одна из основных причин развития рака легких – вдыхание канцерогенов помимо курения. Злокачественными новообразованиями легких в 1,5–2 раза чаще болеют жители крупных промышленных городов, где велик выброс в атмосферу канцерогенных веществ за счет заводов, двигателей внутреннего сгорания, металлургической и химической промышленности, производства удобрений. Риск возникновения рака легкого повышен у рабочих, занятых на производстве алюминия, кокса, чугуна и стали, асбеста, каменноугольной смолы, никеля и его соединений, талька и веществами, содержащими асбестоподобные волокна [Fucic A. et al., 2010; Dela Cruz C.S. et al., 2011; Torok S. et al., 2011; Yano T. et al., 2011].

Однако в качестве основных этиологических факторов развития рака легкого выделяют также и генетическую предрасположенность. На сегодняшний день рак легкого считается мультифакториальной генетической болезнью [Кузнецова И.А. и др., 2012; Cheng Z. et al., 2012; Hou X.H. et al., 2012; Otsuki T. et al., 2012; Wei H.B. et al., 2012]. Доказано, что канцерогенез по своей сути является процессом длительного накопления мутаций и “эпимутаций” прото- и антионкогенов.

Выделяют группу онкоассоциированных аллелей, представляющих собой нормальные варианты генов, которые определяют повышение риска развития рака легкого. Так, в ряде исследований установлено, что поли-

морфизмы генов системы биотрансформации ксенобиотиков GSTM1 и GSTT1 (глутатион-S-трансферазы классов M1 и T1) служат фактором риска развития рака легкого. Это связано с тем, что снижается активность глутатион-зависимой системы биотрансформации ксенобиотиков, что повышает патогенность влияния вредных факторов окружающей среды (в том числе и курения) на легочную ткань и соответственно повышает вероятность развития рака легкого [Ушакова Н.В. и др., 2006; Cabral R.E. et al., 2010; Timofeeva M. et al., 2010; Ada A.O. et al., 2012; Li W. et al., 2012; Pliarchoroulou K. et al., 2012]. Глутатион-S-трансферазы (GST) являются группой ферментов (состоят из 4 классов), которые обладают широкой субстратной специфичностью, метаболизируя многие субстраты [Higgins L.G. et al., 2011; Chen J. et al., 2012; Lannutti F. et al., 2012; Sireesha R. et al., 2012; Sotton B. et al., 2012; Zhang W. et al., 2012]. Различия в уровнях активности изоферментов GST, определяемые полиморфными вариантами соответствующих генов, обуславливают изменения в способности и скорости метаболизма ксенобиотиков. Доказано, что при снижении активности GST классов M1 и T1 риск развития рака легкого возрастает в 16 – 41 раз, в то же время при снижении активности глутатион-S-трансферазы только класса M1 он увеличивается в 2,5 раза [Alexandrie A.K. et al., 2004; Sobti R.C. et al., 2004; Vineis P. et al., 2004; Wenzlaff et al., 2005].

Наряду с полиморфизмом генов системы биотрансформации ксенобиотиков в последнее время все большее внимание уделяется гену-онкосупрессору p53, который играет центральную роль в поддержании стабильности генома и предотвращает процесс удвоения поврежденной ДНК. Продукт данного гена (белок p53) блокирует процесс деления клетки в случае повреждения ее ДНК [Gu B., Zhu W.G., 2012; Sahin E., DePinho R.A., 2012; Roemer K., 2012 Wang X., Jiang X., 2012]. Причем, в случае невозможности репарации ДНК белок p53 запускает механизм апоптоза. Белок p53 является фактором транскрипции и регулирует активность большого числа генов, которые участвуют в торможении клеточного цикла, активации апоптоза и ингибированию ангиогенеза [(Freed-Pastor W.A., Prives C., 2012; Knappskog S., Lønning P.E., 2012; Miyake N. et al., 2012; Zwang Y. et al., 2012)]. Таким образом, мутация гена p53 играет ключевую роль в приобретении клеткой злокачественного фенотипа.

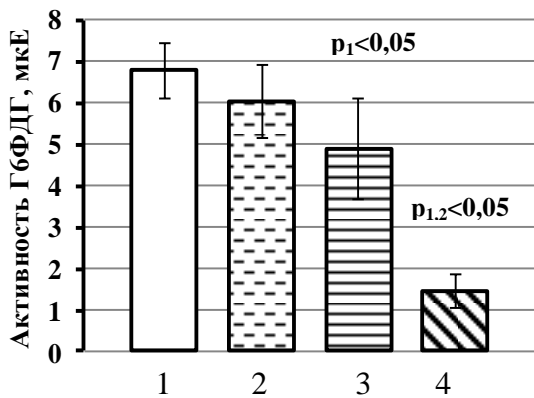
Еще одним фактором, обуславливающим развитие рака, является снижение реактивности иммунной системы. В то же время, с одной стороны, доказано, что именно иммунодефицитное состояние определяет развитие злокачественной опухоли [Hadden J.W., 2003; Hamelin R. et al., 2004; Makinson A. et al., 2010; de Miranda N.F. et al., 2011]. С другой стороны, накапливается все больше сведений, что сама опухоль индуцирует развитие иммунной супрессии, которая может проявляться в широком диапазоне от незначительной степени до полной анергии. Механизмы, ответственные за нарушения функции иммунной системы, в настоящее время

полностью не определены. В целом, установлено, что у больных онкологическими заболеваниями дисфункция иммунной системы проявляется в нарушении антигенпредставляющей функции антигенпрезентирующих клеток, эффекторной функции Т-лимфоцитов, уменьшении пролиферативного индекса и экспрессии отдельных субъединиц рецептора интерлейкина-2, а также в нарушении баланса синтеза цитокинов [Sun T. et al., 2009; Biswas S.K., Mantovani A., 2010; Görgün G., Anderson K.C., 2011; Lum L.G., Thakur A., 2011; Morre M., Beq S., 2012].

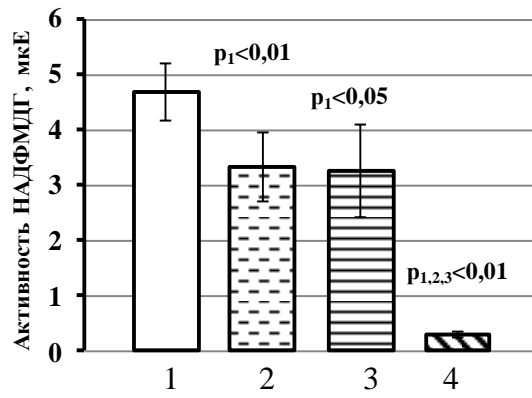
Тем не менее, несмотря на ряд исследований, определяющих важную роль иммунной системы и полиморфизма различных генов в развитии рака легкого, многое в патогенезе данного онкологического заболевания остается неизученным. В частности отсутствуют исследования метаболического статуса клеток иммунной системы при данном заболевании в зависимости от гистологического типа рака легкого, стадии заболевания и генетического полиморфизма. При этом необходимо отметить, что полиморфное состояние ряда генов также может влиять на интенсивность метаболических процессов клеток иммунной системы, определяя их функциональные возможности.

4.1.1. Активность ферментов лимфоцитов в зависимости от гистологической структуры рака легкого

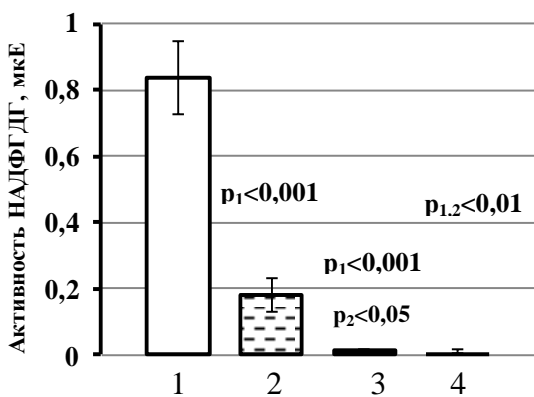
При исследовании состояния активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли установлено, что активность Г6ФДГ снижается в лимфоцитах крови больных аденокарциномой и мелкоклеточным раком легкого (МРЛ) (рис. 4.1, а). При этом, у больных МРЛ достоверность снижения активности фермента проявляется по отношению как к контролю, так и к диапазону, выявляемому у больных плоскоклеточным раком легкого (ПКР). Независимо от гистологического типа опухоли у больных мужчин в лимфоцитах крови снижена активность НАДФМДГ (рис. 4.1, б), НАДФГДГ (рис. 4.1, в) и (рис. 4.1, г). Однако минимальный уровень активности НАДФМДГ выявляется в лимфоцитах крови у больных МРЛ. В то же время, минимальная активность НАДФГДГ выявляется в клетках иммунной системы у больных аденокарциномой и МРЛ. Только у больных аденокарциномой в лимфоцитах крови повышена активность ГР, причем достоверность различия проявляется по отношению как к контрольному уровню, так и к диапазонам активности, выявляемых у больных ПКР и МРЛ (рис. 4.1, д). Кроме того, обнаружено, что активность НАДФН-ГДГ повышена у больных ПКР и аденокарциномой относительно контрольного диапазона и уровня активности больных МРЛ (рис. 4.1, е).



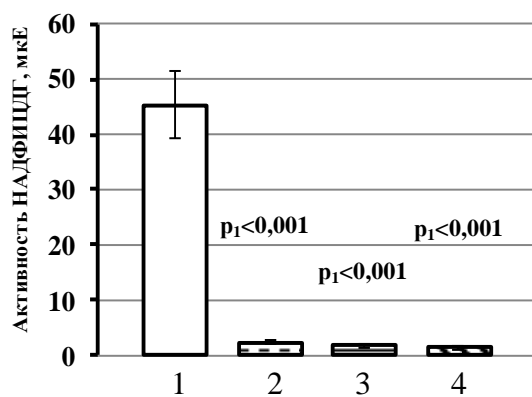
a



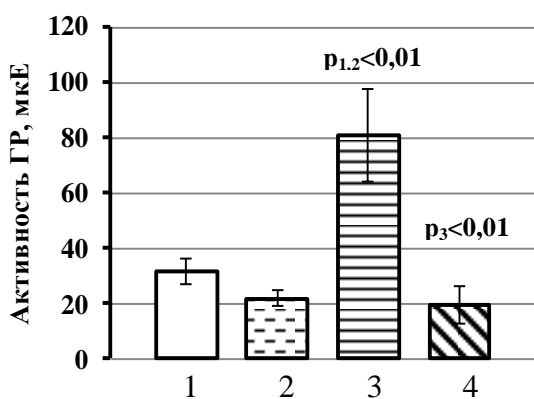
б



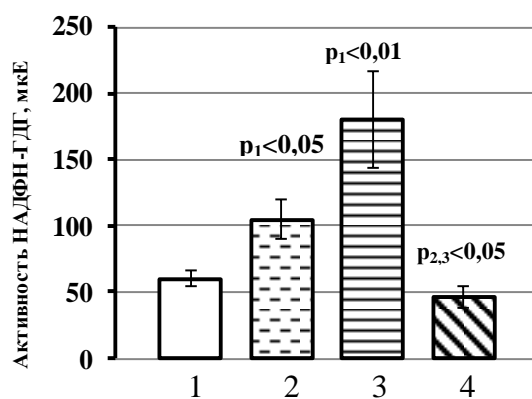
в



г



д



е

Рис. 4.1. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли.

1 – контроль; 2 – ПКР; 3 – аденокарцинома; 4 – мелкоклеточный рак.

Состояние уровней активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли представлено на рис. 4.2. Установлено, что у больных ПКР, аденокарциномой и МРЛ в клетках иммунной системы снижена активность ГЗФДГ (рис. 4.2, *а*). Однако минимальная активность ферменты выявляется у больных МРЛ. Соответствующим образом относительно контрольного диапазона изменяется активность ЛДГ и МДГ (рис. 4.2, *б* и *в*): уровни ферментов снижены независимо от гистологического типа опухоли, но у больных МРЛ активность фермента достоверно ниже и по сравнению с диапазоном, выявленным у пациентов с НМРЛ. Активность НАДФДГ снижена в лимфоцитах крови у больных ПКР и МРЛ (рис. 4.2, *з*), в то время как уровень НАДИЦДГ у больных данных групп – повышена (рис. 4.2, *д*). При этом активность НАДИЦДГ в лимфоцитах крови больных НМРЛ максимальна.

Только у больных ПКР и МРЛ в лимфоцитах крови снижена активность НАДН-ЛДГ (рис. 4.3, *а*). При этом активность НАДН-ЛДГ в лимфоцитах крови больных МРЛ минимальна и статистически достоверно отличается от уровней, выявляемых у больных ПКР и аденокарциномой. Независимо от гистологического типа опухоли в лимфоцитах крови больных раком легкого снижена активность НАДН-МДГ (рис. 4.3, *б*).

С помощью корреляционного анализа установлено, что взаимосвязь метаболических показателей клеток иммунной системы крови с размером опухоли зависит от гистологического типа опухоли. Так, выявляются многочисленные корреляционные связи размера опухоли с активностью ферментов в лимфоцитах крови у больных ПКР: с Г6ФДГ ($r = -0,32$, $p = 0,032$), ЛДГ ($r = -0,42$, $p = 0,005$), НАДФМДГ ($r = -0,35$, $p = 0,006$), НАДФГДГ ($r = -0,42$, $p = 0,008$), МДГ ($r = -0,37$, $p = 0,007$), НАДФДГ ($r = -0,33$, $p = 0,024$), ГР ($r = -0,32$, $p = 0,041$), НАДН-ГДГ ($r = 0,40$, $p = 0,006$) и НАДФН-ГДГ ($r = -0,52$, $p < 0,001$). В то же время, у больных аденокарциномой уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови не взаимосвязаны с размером опухоли. У больных МРЛ выявляется единственная взаимосвязь: с НАДН-ЛДГ ($r = -0,75$, $p < 0,001$).

Сравнительный анализ уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли позволяет отметить, что ферментативный статус клеток иммунной системы больных МРЛ значительно отличается от особенностей внутриклеточного метаболизма больных ПКР и аденокарциномой. Так, на основании установленной активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ у больных ПКР и аденокарциномой метаболизм лимфоцитов крови можно характеризовать следующим образом.

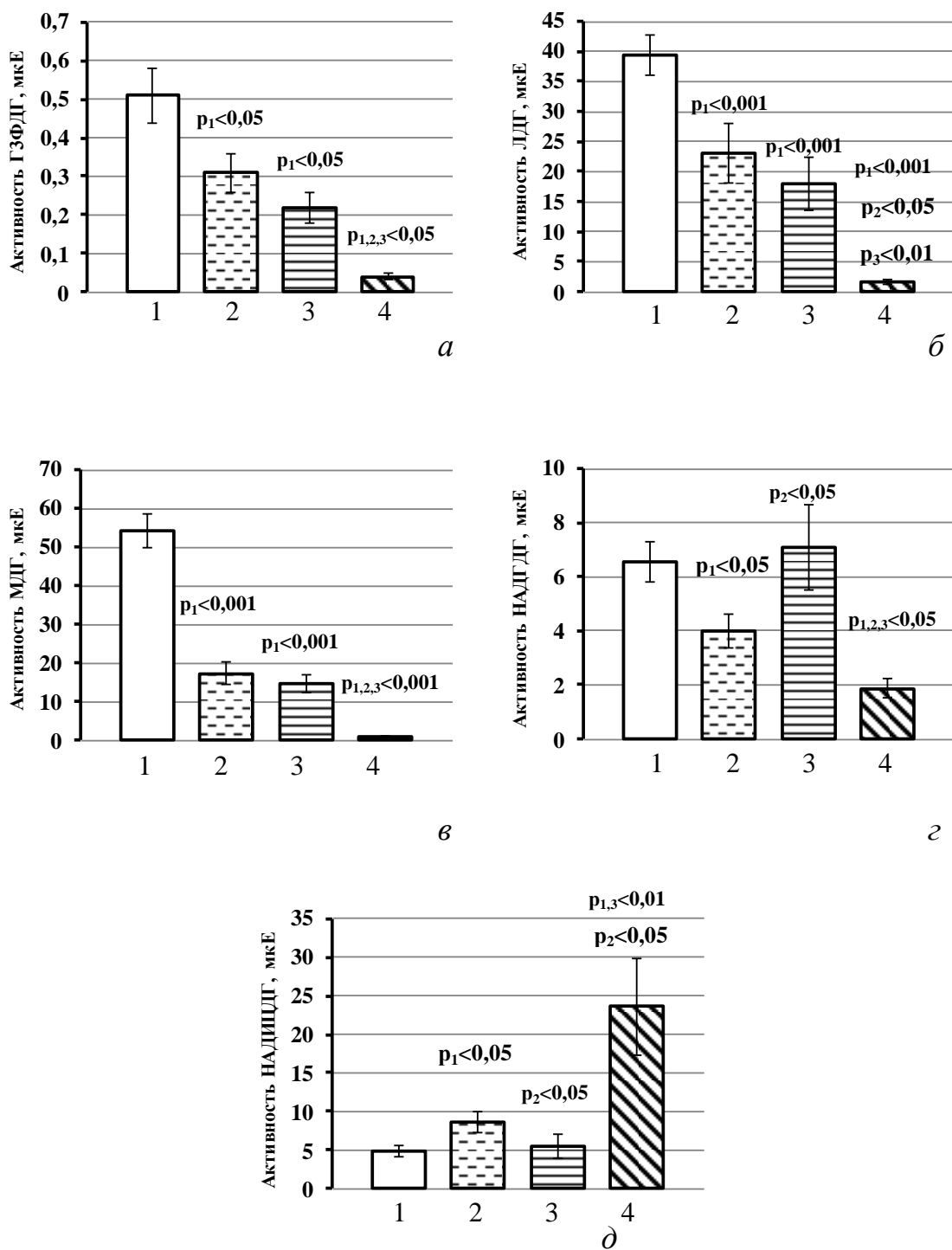
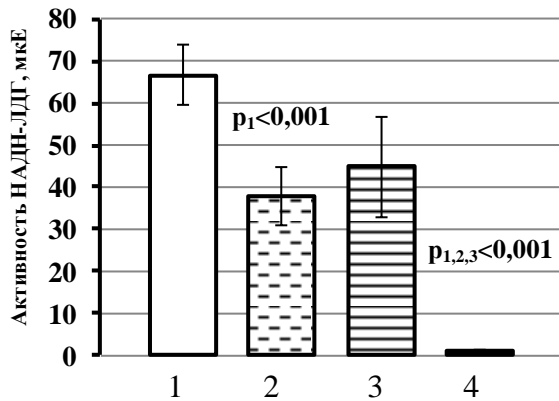


Рис. 4.2. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли.

Усл. обозн. см. на рис. 4.1.

а



б

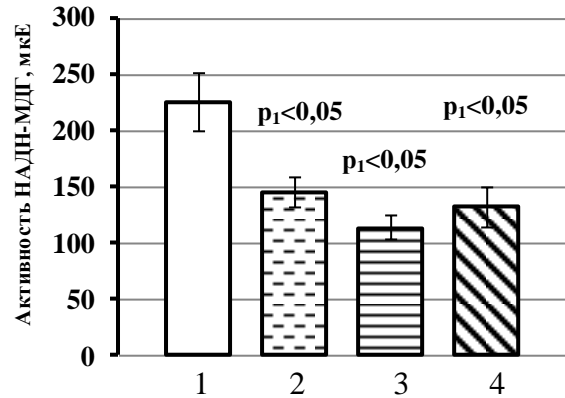


Рис. 4.3. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ и МДГ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли.

Усл. обозн. см. на рис. 4.1.

Снижение активности ГЗФДГ определяет пониженный уровень переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза, что соответственно отражается на интенсивности анаэробного окисления глюкозы ([Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]). Сниженный уровень гликолиза в лимфоцитах крови больных ПКР и аденокарциномой характеризуется понижением активности анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой реакции МДГ. Особенностью метаболического состояния цитоплазматического компартмента клеток иммунной системы у больных НМРЛ является снижение активности НАДФМДГ, что может привести к ингибированию реакций липидного анаболизма. Кроме того, у больных аденокарциномой снижена активность ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла – Г6ФДГ, а активность ГР повышена. Следовательно, в клетках иммунной системы крови у больных аденокарциномой значительно снижены реакции пластического обмена, но при повышении активности глутатион-зависимой антиоксидантной системы.

Состояние митохондриального компартмента клеток иммунной системы крови у больных ПКР и аденокарциномой характеризуется разнонаправленным изменением активности оксидоредуктаз цикла трикарбоновых кислот, снижением активности вспомогательных дегидрогеназных реакций и повышенным уровнем оттока интермедиатов цикла Кребса на реакции

аминокислотного обмена через НАДФ-зависимую глутаматдегидрогеназу. Установлено, что у больных ПКР в отличие от пациентов с аденокарциномой повышена активность НАДИЦДГ – одной из начальных реакций цикла трикарбоновых кислот [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Wise D.R. et al., 2011]. Однако за счет повышенного уровня оттока субстратов уровень МДГ у больных ПКР и аденокарциномой – понижен. Кроме того, в лимфоцитах крови больных НМРЛ снижен уровень притока субстратов на окислительно-восстановительные реакции лимонного цикла. Однако в этом случае выявляются особенности, определяемые гистологическим типом опухоли. Так, у больных ПКР при снижении активности НАДГДГ менее выражено снижается активность НАДФГДГ. В то же время, у больных аденокарциномой активность НАДГДГ находится на контрольном уровне, тогда как активность НАДФГДГ снижена до минимума, который может быть определен биолюминесцентным методом.

Метаболизм лимфоцитов крови больных МРЛ также характеризуется ингибированием анаэробных реакций пластического обмена, анаэробного окисления глюкозы и цикла трикарбоновых кислот. Однако снижение активности данных метаболических процессов более выражено, чем в лимфоцитах больных НМРЛ. При этом установлено, что максимальный уровень НАДИЦДГ в лимфоцитах крови больных МРЛ совпадает с минимальным уровнем МДГ, активность которой характеризует терминальные реакции цикла трикарбоновых кислот. Причем, ингибирование реакций цикла Кребса не связано с оттоком субстратов на реакции аминокислотного обмена, что определяется нормальным уровнем НАДФН-ГДГ.

Значительно различаются регуляторные особенности метаболизма клеток иммунной системы крови у больных раком легкого с различным гистологическим типом опухоли, что определяется взаимосвязями активности метаболических ферментов лимфоцитов с размером опухоли. Так, максимальное количество взаимосвязей выявляется у больных ПКР. С ростом опухоли снижается интенсивность пластических процессов, определяемых продуктами пентозофосфатного цикла, а также активность реакций липидного анаболизма и аэробного дыхания. В то же время, у больных аденокарциномой метаболизм лимфоцитов крови не зависит от размера опухоли, что отражает отсутствие регуляторных взаимосвязей опухоли и клеток иммунной системы крови. У больных МРЛ с помощью корреляционного анализа установлено, что с ростом опухоли снижается активность анаэробной реакции ЛДГ, характеризующей интенсивность терминальных стадий гликолиза.

С помощью модели нейросетевого классификатора изучена информативность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли. Нейросетевой классификатор представляет собой компьютерную программу, способную к самообучению и принятию на основе него решений

[Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998]. Нейросеть определяется конечным числом нейронов (максимальное число соответствует числу введенных показателей + 2) и матрицей синапсов (связи между нейронами). Входные данные подаются на входные нейроны. Выходные сигналы снимаются с выходных нейронов. Обучение нейронной сети проводится методом обратного распространения ошибки. Входными данными при обучении программы является обучающая выборка, состоящая из отдельных примеров, каждый из которых представляет собой определенный набор исследуемых параметров. Все примеры обучающей выборки нейросетевого классификатора разбиты на классы (в нашем случае 2), в отношении которых и решается задача классификации. Класс – это выбор одного из нескольких возможных вариантов ответа [Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998]. Установлено, что в модели нейросетевого классификатора Здоровые – Больные ПКР наиболее информативными явились уровни активности НАДФИЦДГ, НАДИЦДГ, НАДН-ЛДГ, Г6ФДГ и НАДН-МДГ (рис. 4.4). Следовательно, системные отличия внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови от контрольного характеризуются нарушениями окислительно-восстановительных реакций, определяющих интенсивность аэробных, пластических и анаэробных процессов.

Наиболее значимыми метаболическими параметрами модели нейросетевого классификатора здоровые – больные аденокарциномой легкого были уровни активности НАДФИЦДГ, ГР, НАДГДГ, НАДН-ЛДГ и НАДФМДГ (рис. 4.5). На основании данных результатов можно заключить, что нейросетевая характеристика внутриклеточного метаболизма лимфоцитов у больных данной группы основной акцент определяет на недостаточность анаболических реакций и нарушений в системе анаэробного окисления глюкозы.

В качестве наиболее информативных параметров метаболизма клеток иммунной системы в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные МРЛ выделены уровни активности НАДФМДГ, НАДН-МДГ, НАДН-ЛДГ, Г6ФДГ и НАДИЦДГ (рис. 4.6). Установленная особенность гистограммы значимости метаболических показателей в данной нейросетевой модели классификатора определяет информативность всех исследуемых процессов клеток иммунной системы для дифференцировки лиц контрольной группы и больных МРЛ. Данный результат полностью согласуется с представленным выше анализом особенности метаболизма лимфоцитов крови у больных МРЛ по отношению как к контролю, так и к больным с ПКР и аденокарциномой легкого.

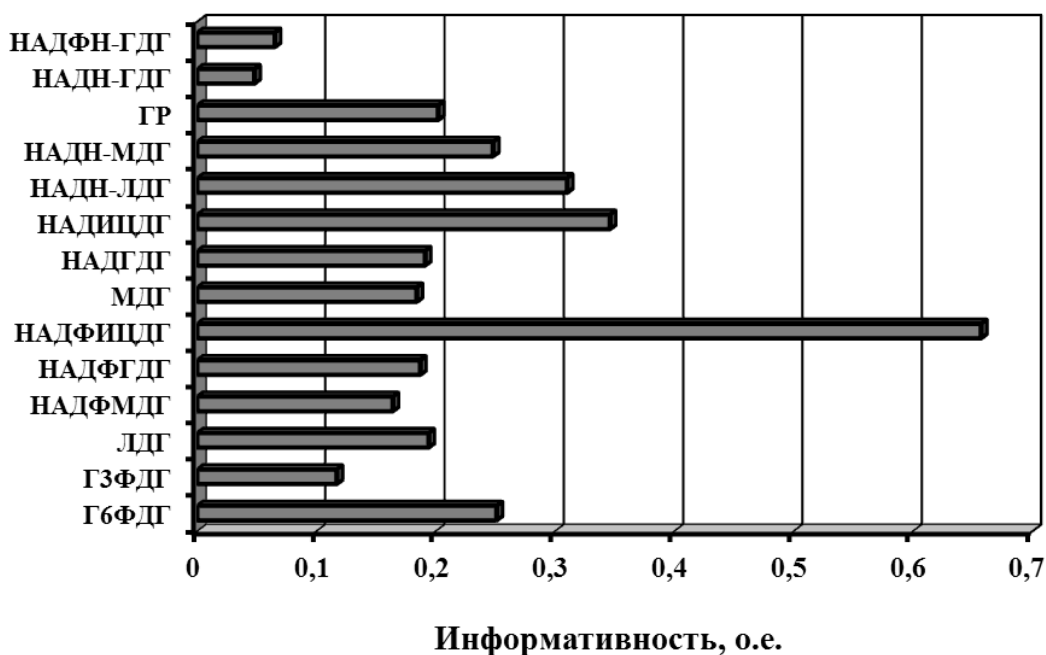


Рис. 4.4. Информативность уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные ПКР.

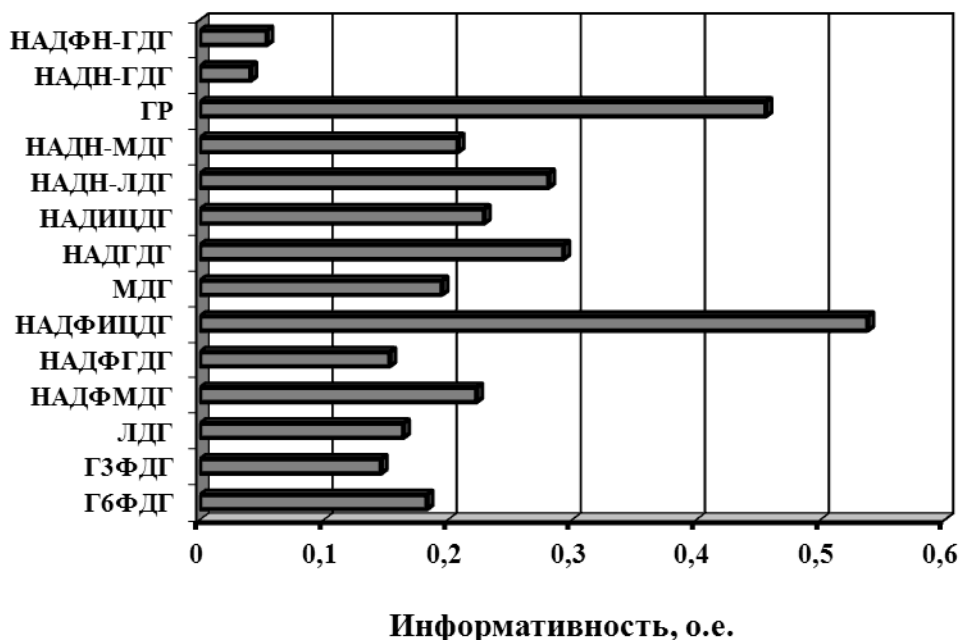


Рис. 4.5. Информативность уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные аденокарциномой легкого.

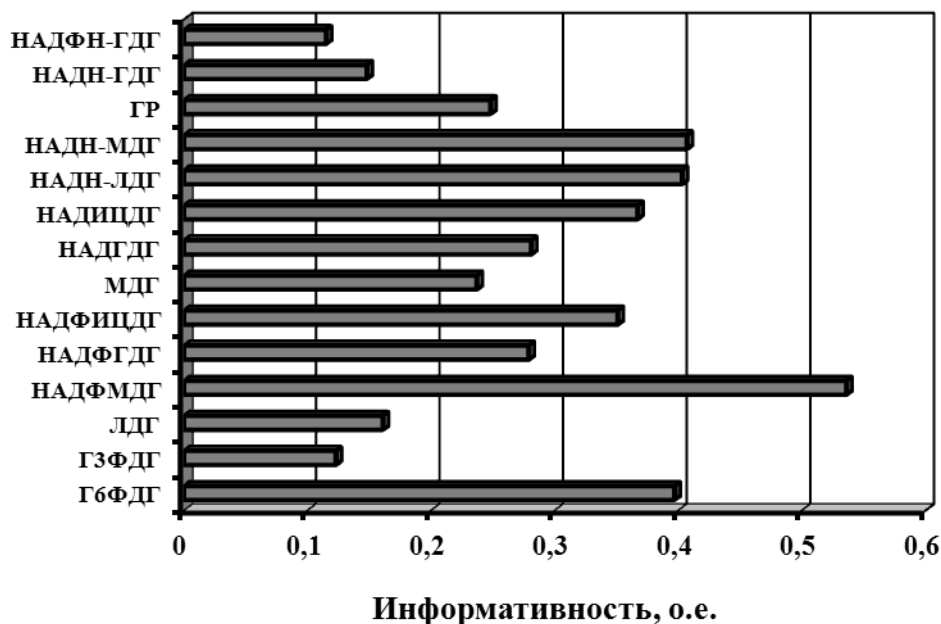


Рис. 4.6. Информативность уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные МРЛ.

Нами проведен вычислительный эксперимент, задачей которого было оценить системные различия внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови у больных раком легкого с различными гистологическими вариантами опухоли. Для этого через каждую из трех представленных нейросетей были протестированы базы данных больных раком легкого. Обнаружено, что при тестировании через нейросеть здоровые – больные ПКР баз данных больных аденокарциномой и МРЛ соответственно 93,5 и 92,3 % определялись как больные раком легкого. При тестировании через нейросеть здоровые – больные аденокарциномой баз данных больных ПКР и МРЛ соответственно 71,0 и 92,3 % определялись как больные раком легкого. В то же время, при тестировании через нейросеть здоровые – больные МРЛ баз данных больных ПКР и аденокарциномой только соответственно 40,3 и 48,4 % лиц определялись как больные раком легкого. Нейросеть представляет собой системную характеристику метаболизма клеток иммунной системы крови, отражающую целостность, многосвязность, компонентность и устойчивость системы анализируемых показателей [Касти Дж., 1982; Горбань, А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998]. На основании полученных результатов можно сделать следующие заключения. Во-первых, взаимосвязь и широта распределения показателей метаболизма лимфоцитов крови у больных ПКР и аденокарцино-

мой шире, чем у больных МРЛ. Это обусловлено тем, что при тестировании баз данных больных ПКР и аденокарциномой через классификационную нейросеть больных МРЛ у большей части лиц рак легкого не определялся. И наоборот, у большинства больных МРЛ при тестировании через нейросети больных ПКР и аденокарциномой он определялся. Во-вторых, системные характеристики метаболизма клеток иммунной системы крови, на основании которых нейросетевой классификатор дифференцировал больных ПКР и аденокарциномой относительно контроля, достаточно близки, что позволяет определить значительные сходства особенностей метаболизма у больных ПКР и аденокарциномой.

При исследовании активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов лимфоузлов корня легкого обнаружено, что у больных МРЛ выявляются выраженные различия с показателями больных ПКР и аденокарциномой (рис. 4.7). Так, у них значительно повышена активность Г6ФДГ в лимфоцитах лимфоузлов. Соответствующим образом изменяется активность НАДФМДГ, НАДФГДГ и НАДФИЦДГ. Однако при этом активность НАДФМДГ в лимфоцитах лимфоузлов больных аденокарциномой была ниже, чем у больных ПКР, а у НАДФГДГ и НАДФИЦДГ – соответственно выше.

При исследовании уровней активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого в зависимости от гистологического варианта опухоли у больных МРЛ выявлены отличительные особенности по отношению к больным с ПКР и аденокарциномой (рис. 4.8). Так, у них повышены уровни активности Г3ФДГ, ЛДГ и НАДИЦДГ, у больных аденокарциномой относительно уровня ферментов у больных ПКР понижена активность НАДИЦДГ. В то же время, у больных ПКР относительно уровня ферментов больных аденокарциномой и МРЛ повышена активность НАДН-ЛДГ (рис. 4.8).

Анализ уровней активности в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого в зависимости от гистологического варианта опухоли позволяет определить более выраженные особенности при мелкоклеточном раке легкого. Так, в лимфоцитах лимфоузлов при мелкоклеточном раке легкого значительное повышение активности Г6ФДГ характеризует интенсификацию пластических процессов, зависящих от продуктов пентозофосфатного цикла. Однако увеличение оттока интермедиатов на реакции пластического обмена вызывает снижение интенсивности субстратного потока по гликолизу, что и выражается в пониженном уровне анаэробной реакции ЛДГ.

В качестве компенсаторной реакции, направленной на активацию интенсивности анаэробного окисления глюкозы, можно рассматривать повышение активности Г3ФДГ – фермента, осуществляющего перенос продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза. Также особенностью метаболического состояния цито-

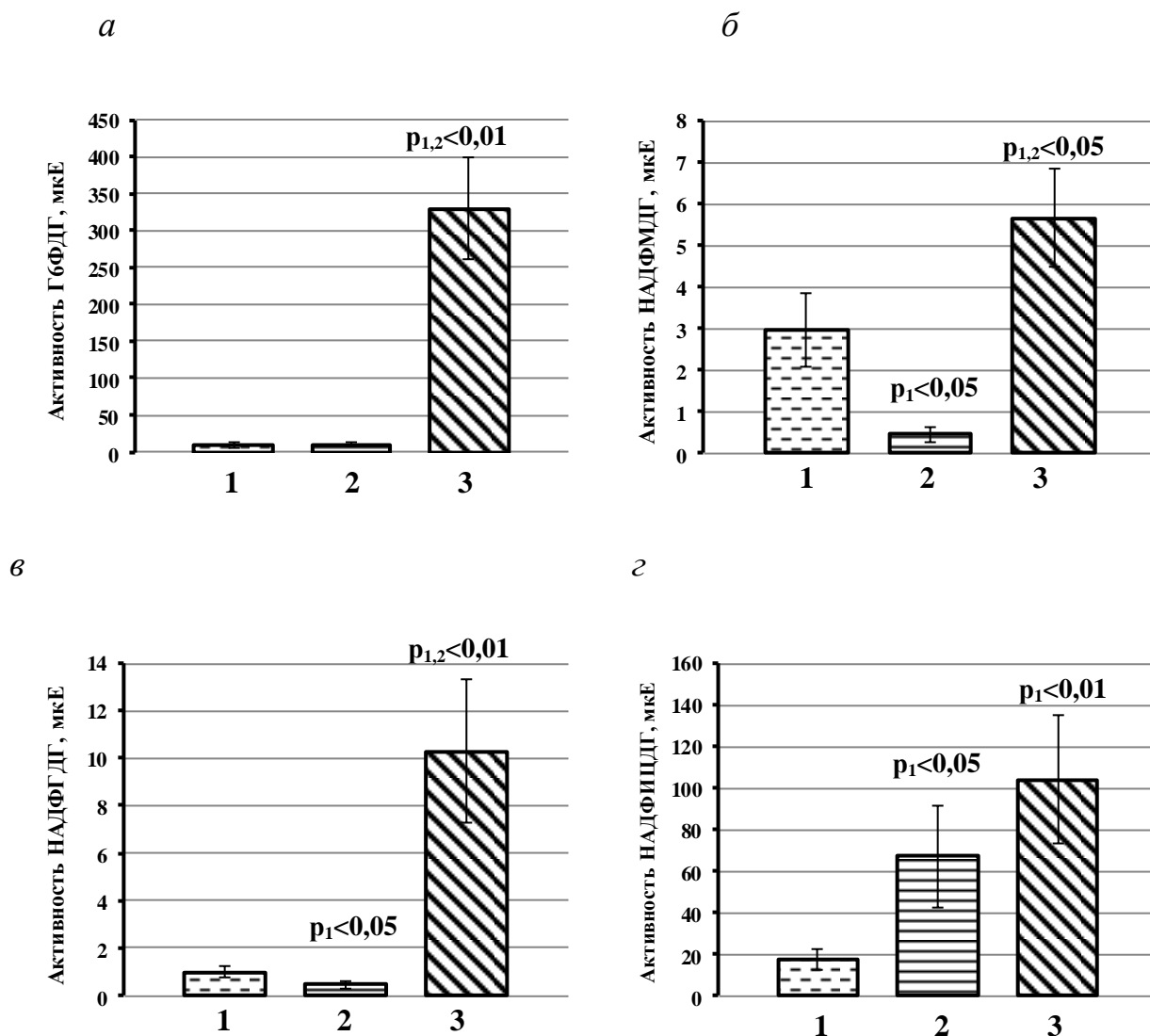


Рис. 4.7. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных с разным гистологическим вариантом рака легкого.

1 – ПКР; 2 – аденокарцинома; 3 – мелкоклеточный рак.

плазматического компартмента клеток иммунной системы лимфоузлов у больных МРЛ является повышенный уровень аэробной реакции ЛДГ, что, по-видимому, при пониженном уровне гликолиза связано с необходимостью субстратного наполнения цикла трикарбоновых кислот и соответственно стимуляции интенсивности аэробных процессов.

Необходимо подчеркнуть, что активность НАДИЦДГ (характеризующей интенсивность начальных реакций цикла Кребса) в лимфоцитах лимфоузлов является максимальной именно у больных МРЛ. При этом в клетках иммунной системы лимфоузлов у данной группы больных стимуляция аэробных процессов осуществляется через повышенный уровень

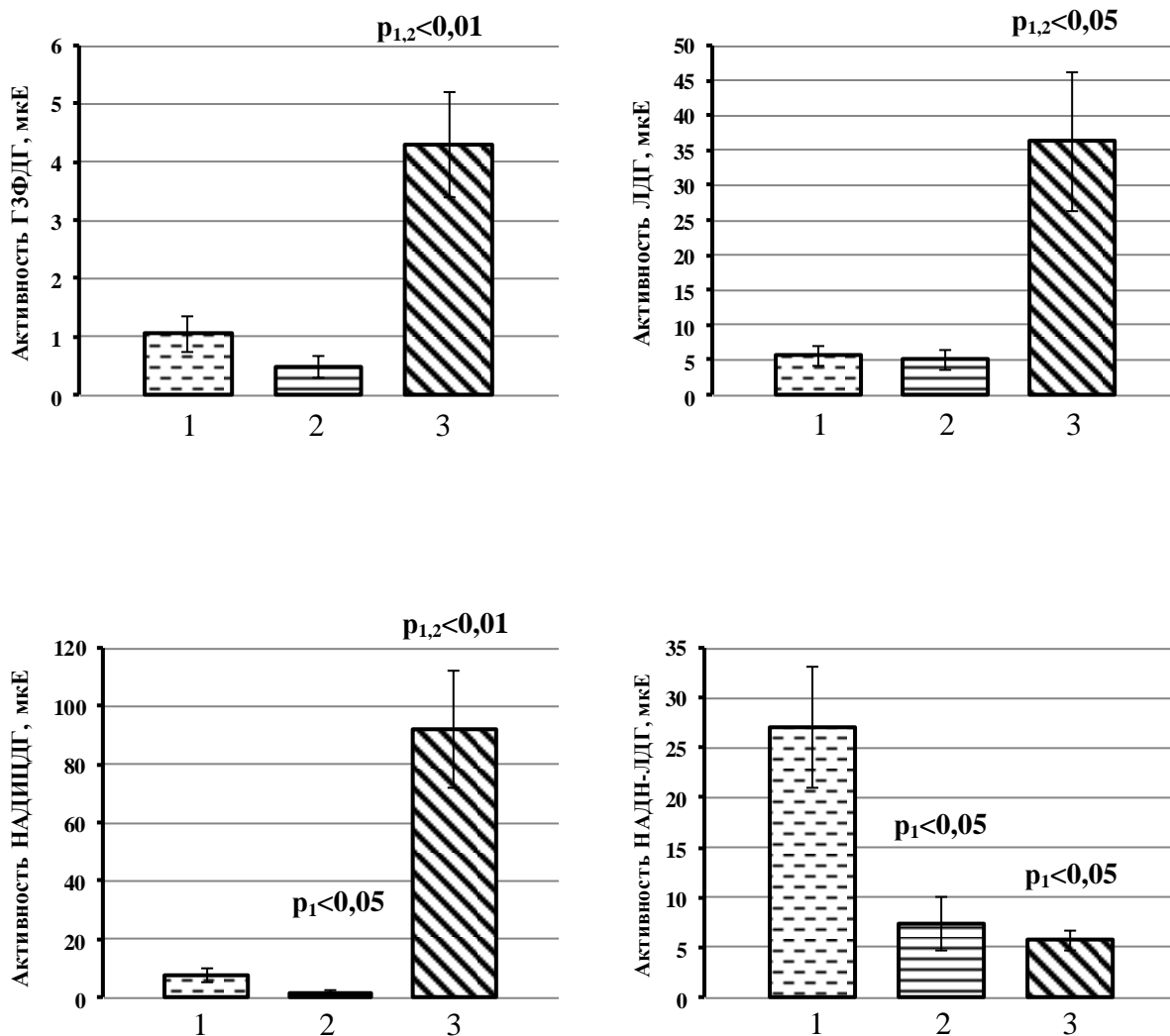


Рис. 4.8. Уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных с разным гистологическим вариантом рака легкого.
Усл. обозн. см. на рис. 4.7.

вспомогательных (НАДФГДГ и НАДФИЦДГ) и шунтирующих реакций (НАДФМДГ).

При сравнении уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов лимфоузлов корня легкого у больных с различным гистологическим вариантом НМРЛ выявлены менее выраженные различия. Во-первых, снижение уровня анаэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах у больных аденокарциномой позволяет предположить ингибирование терминальных реакций гликолиза. Во-вторых, у больных аденокарциномой в лимфоцитах лимфоузлов снижение активности НАДФМДГ (шунтирующей реакции) и НАДФГДГ (вспомогательной реакции) приводит к снижению субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот (пониженный уро-

вень НАДИЦДГ) и, следовательно, может привести к ингибированию аэробных процессов. Причем, даже повышение активности НАДФИЦДГ (вспомогательной реакции), по-видимому, не приводит к значимому повышению интенсивности реакций цикла Кребса.

С помощью корреляционного анализа исследованы взаимосвязи между активностью НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови и лимфоузлов корня легкого в зависимости от гистологического типа рака легкого. У больных ПКР выявлены положительные взаимосвязи между уровнями активности НАДФГДГ ($r = 0,79$, $p < 0,001$) и НАДФН-ГДГ ($r = 0,63$, $p = 0,008$) лимфоцитов крови и лимфоузлов. У больных аденокарциномой обнаружена только одна отрицательная взаимосвязь между уровнями активности анаэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах крови и лимфоузлов ($r = -0,86$, $p = 0,006$). У больных МРЛ взаимосвязей между исследуемыми показателями метаболизма лимфоцитов крови и лимфоузлов не обнаружено.

Таким образом, сравнительный анализ уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли позволил установить, что состояние метаболизма лимфоцитов крови у больных МРЛ значительно отличается от интенсивности обменных процессов у больных ПКР и аденокарциномой. Причем, независимо от гистологического типа опухоли у больных раком легкого снижается интенсивность анаэробных и аэробных процессов. Однако у больных МРЛ в лимфоцитах крови снижение энергетических реакций наиболее выражено, чем у больных ПКР и аденокарциномой. Особенностью состояния метаболизма клеток иммунной системы крови у больных аденокарциномой является снижение уровня ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла и повышение активности глутатион-зависимой антиоксидантной системы. С помощью нейросетевого классификатора подтверждено, что системные характеристики метаболизма клеток иммунной системы крови, на основании которых нейросетевой классификатор дифференцировал больных ПКР и аденокарциномой относительно контроля, достаточно близки. Кроме того доказано, что взаимосвязь и широта распределения показателей метаболизма лимфоцитов крови у больных ПКР и аденокарциномой шире, чем у больных МРЛ. В лимфоцитах лимфоузлов при мелкоклеточном раке легкого значительно повышена активность пластических процессов, катаболических реакций липидного обмена и уровень анаэробных и аэробных реакций. При сравнении уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов лимфоузлов корня легкого у больных с различным гистологическим вариантом НМРЛ выявлены менее значительные различия, выражающиеся в снижении интенсивности гликолиза и аэробных реакций при аденокарциноме по сравнению с ПКР. С помощью корреляционного анализа установлено, что у больных ПКР взаимосвязь между пулами лим-

фоцитов крови и лимфоузлов (по фенотипическим и метаболическим характеристикам) сильнее, чем у больных аденокарциномой и МРЛ.

4.1.2. Уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов на разных стадиях немелкоклеточного рака легкого

Взаимоотношения злокачественной опухоли и организма-носителя многообразны. С одной стороны, организм создает опухоли необходимые условия для существования и роста, с другой – противодействует развитию рака [Долгих В.Т., 2001; Барышников А.Ю., 2003]. В динамике роста и развития опухоли меняется ее взаимоотношения с иммунной системой, что характеризуется, и в том числе, изменением интенсивности метаболических процессов в лимфоцитах.

Обнаружено, что уже при I стадии заболевания снижены уровни активности Г6ФДГ, НАДФМДГ, НАДФГДГ и НАДФИЦДГ. Активность Г6ФДГ в клетках иммунной системы крови у больных со II стадией рака легкого остается сниженной, тогда как на III стадии заболевания повышается, превалируя контрольный уровень (рис. 4.9). В то же время, при IV стадии заболевания активность Г6ФДГ снижается относительно уровня, выявленного на III стадии НМРЛ, достигая контрольного диапазона. Пониженная активность НАДФМДГ в лимфоцитах крови при I стадии рака легкого на II и последующих стадиях повышается, достигая контрольного диапазона на IV стадии заболевания (рис. 4.9). Активность НАДФГДГ в лимфоцитах крови изменяется в зависимости от стадии заболевания, но при этом постоянно остается достоверно ниже контрольного диапазона (рис. 4.9). Активность НАДФИЦДГ независимо от стадии НМРЛ также остается ниже контрольного уровня (рис. 4.9). Активность ГР в клетках иммунной системы повышается при II стадии заболевания, но уже при III стадии снижается до контрольного уровня, сохраняясь в диапазоне нормы (рис. 4.9). Уровень активности НАДФН-ГДГ в лимфоцитах больных со II стадией патологического процесса повышается. При IV стадии заболевания он резко повышается как относительно контрольного диапазона, так и уровней, выявленных у больных с I, II и III стадиями рака легкого.

Уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания представлены на рис. 4.10. Установлено, что уже на I стадии заболевания в лимфоцитах периферической крови снижена активность Г3ФДГ, МДГ, НАДГДГ и НАДИЦДГ. Активность Г3ФДГ в клетках иммунной системы крови у больных со II стадией рака легкого нормализуется, однако на III стадии снова статистически достоверно понижается с повышением до контрольного диапазона на IV стадии (рис. 4.10, а). Активность ЛДГ в лимфоцитах

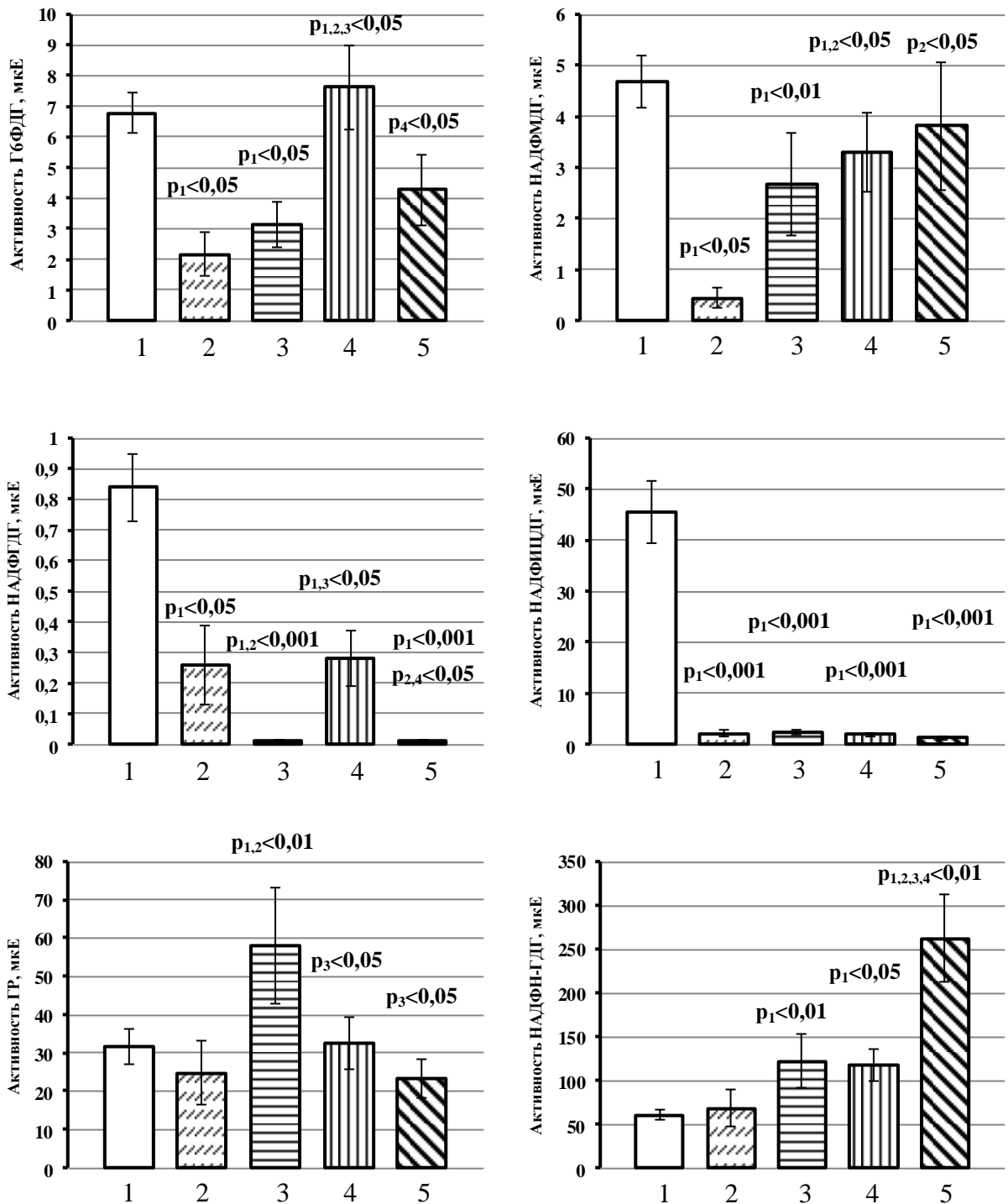


Рис. 4.9. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания.

1 – Контроль; 2 – I стадия; 3 – II стадия; 4 – III стадия; 5 – IV стадия.

крови у больных со II стадией заболевания снижается в 4,4 и 3,7 раза соответственно относительно контрольного диапазона и уровня, выявленного у мужчин на I стадии рака легкого (рис. 4.10, б). При III стадии патологического процесса активность данного фермента несколько повышается, не достигая при этом контрольного и исходного уровней. На IV стадии заболевания она снова снижается. Активность МДГ в лимфоцитах крови больных НМРЛ снижена относительно контрольного уровня независимо от стадии заболевания (рис. 4.10, в). Активность НАДГДГ, сниженная в лимфоцитах крови больных с I стадией заболевания, при II стадии повышается до контрольного диапазона и остается на данном уровне при III и IV стадиях (рис. 4.10, г). Сниженная активность НАДИЦДГ в лимфоцитах крови у больных с I стадией НМРЛ значительно повышается на II стадии патологического процесса, при III стадии снижается, оставаясь при этом повышенной относительно как исходного уровня, так и контрольного диапазона (рис. 4.10, д). При IV стадии заболевания внутриклеточная активность данного фермента снижается уже до уровня контрольного диапазона.

Активность анаэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах периферической крови снижена уже у больных с I стадией НМРЛ (рис. 4.11). На II стадии заболевания она повышается, но контрольного диапазона достигает лишь на III стадии. У больных с IV стадией активность НАДН-ЛДГ вновь резко снижается. Активность НАДН-МДГ в лимфоцитах крови у больных с I стадией НМРЛ также понижена (рис. 4.11). При II стадии она восстанавливается до контрольного диапазона, а при III и IV стадиях прогрессивно снижается, достигая на терминальной стадии уровня, выявленного при I стадии патологического процесса. Аналогично в зависимости от стадии НМРЛ изменяется активность НАДН-ГДГ (рис. 4.11). При I стадии заболевания обнаружено ее значительное снижение, тогда как при II стадии уровень фермента восстанавливается, вновь снижаясь к IV стадии рака легкого.

С помощью корреляционного анализа выявлены особенности во взаимосвязи уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови с размером опухоли в зависимости от стадии НМРЛ. Установлено, что при I стадии заболевания с размером опухоли коррелирует только активность ЛДГ ($r = -0,75$, $p = 0,028$). При II стадии не обнаружены взаимосвязи между размером опухоли и уровнями активности метаболических ферментов в лимфоцитах крови. У больных с III стадией рака легкого с размером опухоли взаимосвязаны уровни активности НАДФМДГ ($r = -0,44$, $p = 0,005$), НАДФГДГ ($r = -0,43$, $p = 0,006$), МДГ ($r = -0,43$, $p = 0,006$), НАДГДГ ($r = -0,44$, $p = 0,005$) и НАДФН-ГДГ ($r = -0,44$, $p = 0,005$). При IV стадии заболевания также выявлены отрицательные взаимосвязи размера опухоли и уровней активности Г6ФДГ ($r = -0,62$, $p = 0,012$), ЛДГ ($r = -0,67$, $p = 0,003$), НАДФГДГ ($r = -0,67$, $p = 0,002$) и МДГ ($r = -0,53$, $p = 0,031$).

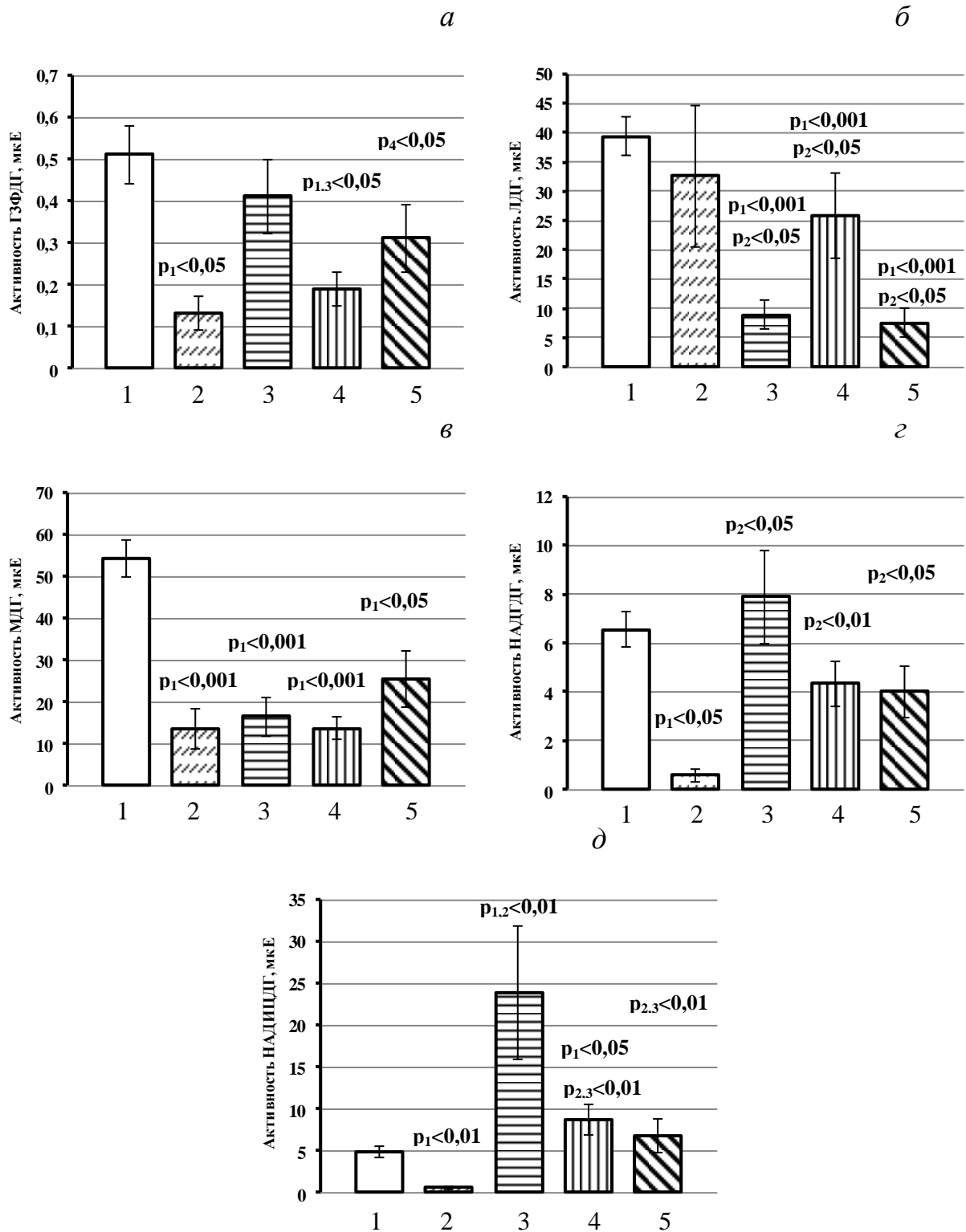


Рис. 4.10. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания.

Усл. обозн. см. на рис. 4.9.

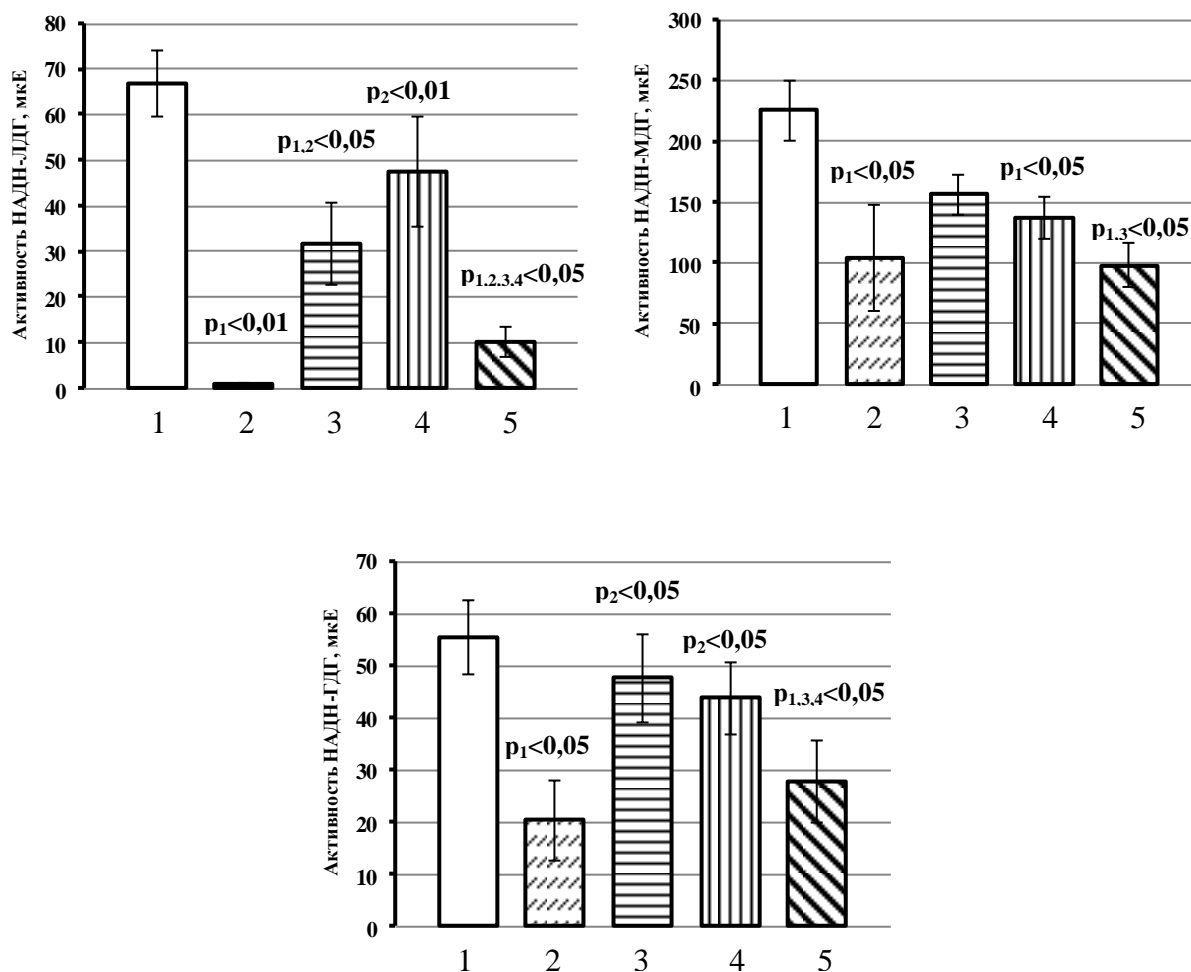


Рис. 4.11. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ, МДГ и НАДФДГ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания.

Усл. обозн. см. на рис. 4.9.

Анализ уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови в зависимости от стадии НМРЛ позволил установить, что уже при I стадии заболевания в клетках иммунной системы крови снижены пластические процессы, определяемые реакциями Г6ФДГ и НАДФМДГ. Пониженный уровень активности Г3ФДГ характеризует снижение интенсивности переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]. Подобное состояние реакций, стимулирующих анаэробное окисление глюкозы, соответственно может привести к ингибированию

гликолиза, что подтверждается сниженной активностью анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой реакции МДГ. При этом можно предположить, что ингибирование ферментативных реакций гликолиза в лимфоцитах крови больных с I стадией рака легкого осуществляется не только на терминальных реакциях (характеризуется уровнями активности НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ), но и на начальных (характеризуется активностью Г6ФДГ). Снижение наработки пирувата в гликолизе может быть компенсировано уровнем активности аэробной реакции ЛДГ. Однако в лимфоцитах крови активность аэробной реакции ЛДГ не отличается от контроля, в результате чего в митохондриальный компартмент может поступать пониженное количество данного субстрата, что соответственно приведет к ингибированию ферментативных реакций цикла трикарбоновых кислот. Действительно, пониженные уровни активности НАДИЦДГ и МДГ отражают снижение интенсивности субстратного потока по лимонному циклу [Matsuda T. et al., 2010; Shi Q., Alexander B.M., Mehta M.P., 2011; Gibson G.E., 2011; Robbins D. et al., 2012]. Метаболическая значимость аэробной реакции ЛДГ характеризуется наличием отрицательной корреляционной взаимосвязи между ЛДГ и размером опухоли: у больных с I стадией заболевания именно при снижении активности ЛДГ увеличивается размер опухоли. Недостаточность метаболических реакций митохондриального компартмента также определяется снижением активности вспомогательных дегидрогеназных реакций (НАДФИЦДГ и НАДФГДГ) и нарушением взаимосвязей между реакциями цикла Кребса и процессами аминокислотного обмена (понижение активности НАДГДГ и НАДН-ГДГ).

При II стадии НМРЛ в лимфоцитах крови сохраняется пониженная активность Г6ФДГ и НАДФМДГ, что позволяет предположить пониженную наработку ряда интермедиатов для реакций макромолекулярного синтеза и ингибирование процессов липидного анаболизма. При этом выявляется повышение активности ГР, что характеризует активацию глутатион-зависимой антиоксидантной системы [Сафонова О.А. и др., 2011; Ефременко Е.С. и др., 2012; Waggiallah H., Alzohairy M., 2011; Djukic M.M. et al., 2012; Niedźwiedz A. et al., 2012; Yan J. et al., 2012]. Между тем активность Г3ФДГ в клетках иммунной системы крови у больных раком легкого со II стадией заболевания восстанавливается до контрольного уровня, что соответственно стимулирует окислительно-восстановительные реакции гликолиза за счет продуктов липидного катаболизма. По-видимому, сохранение активности Г3ФДГ в уровне контрольного диапазона можно определить как компенсаторную реакцию, так как уровень анаэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах крови у больных со II стадией заболевания значительно выше, чем при I стадии, а активность НАДН-зависимой реакции МДГ достигает контрольного диапазона. Можно отметить, что наработка пирувата в цитоплазматическом компартменте лимфоцитов, по-видимому, даже несмотря на сниженный уровень аэробной реакции ЛДГ достаточен, так как уровень

НАДИЦДГ в лимфоцитах крови больных со II стадией заболевания резко повышается и более чем в 5,0 раз превышает контрольный диапазон. Однако при этом, выявляется низкая (в 3,3 раза по сравнению с контролем) активность МДГ, что позволяет предположить ингибирование последних реакций цикла трикарбоновых кислот. Необходимо отметить, что подобное состояние реакций лимонного цикла проявляется при сниженном уровне вспомогательных дегидрогеназных реакций, но при повышении оттока субстратов с цикла через НАДФН-ГДГ и при сохранении интенсивности притока через НАДГДГ.

В лимфоцитах крови у больных с III стадией НМРЛ выявляется значительное повышение активности Г6ФДГ (относительно уровней активности при предыдущих стадиях заболевания и относительно контрольного диапазона), что позволяет предположить активацию ряда пластических процессов. При этом сохраняется пониженный уровень активности ключевой реакции липидного анаболизма – НАДФМДГ [Куо С.С. et al., 2008; Ху J. et al., 2008; Фу Z.Y. et al., 2009; Хsieh J.Y. et al., 2009]. При этом с помощью корреляционного анализа доказано, что чем выше ингибирование НАДФМДГ, тем больше размер опухоли. Подобные особенности в работе НАДФН в цитоплазматическом компартменте приводят к тому, что активность ГР сохраняется на уровне контрольного диапазона. Вновь в лимфоцитах крови больных на II стадии заболевания выявляется снижение активности ГЗФДГ, однако при этом активность анаэробной реакции ЛДГ достигает диапазона нормы, тогда как активность НАДН-зависимой реакции МДГ значительно снижена. В связи с этим можно предположить, что интенсивность анаэробного окисления глюкозы соответствует контрольному уровню, а ингибирование ключевой реакции малат-аспартатного шунта связано с недостаточностью митохондриальных метаболических процессов. Действительно, при исследовании состояния метаболических реакций в митохондриальном компартменте клеток иммунной системы крови у больных с III стадией НМРЛ обнаружено, что если активность НАДИЦДГ и превышает контрольный уровень, то активность МДГ почти в 4 раза снижена по сравнению с ним. При этом сохраняется пониженный уровень активности вспомогательных дегидрогеназных реакций и повышение оттока субстратов с лимонного цикла через НАДФН-зависимую реакцию глутаматдегидрогеназы, но при сохранении на контрольном уровне интенсивности притока интермедиатов через НАДГДГ. Необходимо подчеркнуть, что при данной стадии заболевания выявляется максимальное количество взаимосвязей между размером опухоли и уровнями активности ферментов митохондриального компартмента. Причем, выявляются только отрицательные корреляционные связи, что отражает зависимость роста опухоли с ингибированием метаболических процессов в митохондриальном компартменте. С этой позиции прежде всего выделяются ферменты, опреде-

ляющие взаимосвязь реакций цикла трикарбоновых кислот и процессов аминокислотного обмена (НАДФГДГ, НАДГДГ и НАДФН-ГДГ).

При IV стадии НМРЛ в лимфоцитах крови активность Г6ФДГ, НАДФМДГ и ГР выявляется на уровне контрольного диапазона, что характеризует достаточность реакций пластического обмена, липидного анаболизма и глутатион-зависимой антиоксидантной системы соответственно. При этом можно предположить, что Г6ФДГ проявляет себя как конкурент гликолизу за субстрат, так как, несмотря на высокий уровень активности Г3ФДГ, выявляется снижение активности анаэробной реакции ЛДГ (в 6,6 раза) и НАДН-зависимой реакции МДГ (в 2,3 раза). Сниженная интенсивность гликолиза проявляется при пониженном уровне аэробной реакции ЛДГ, что соответственно дополнительно ухудшает энергетическое состояние цитоплазматического компартмента клеток иммунной системы при терминальной стадии канцерогенеза. При этом выявляется отрицательная взаимосвязь уровней активности Г6ФДГ и ЛДГ с размером опухоли, что отражает повышение роста опухоли именно при ингибировании интенсивности пластических реакций и аэробных процессов в лимфоцитах крови. Состояние метаболических реакций в цикле трикарбоновых кислот в лимфоцитах крови при IV стадии заболевания характеризуется сохранением на контрольном уровне активности НАДИЦДГ и снижением активности МДГ. Активность вспомогательных дегидрогеназных реакций также снижена. При этом несомненно, что на нарушение активности метаболических реакций лимонного цикла влияют повышенный уровень оттока интермедиатов через НАДФН-ГДГ (более чем в 4,3 раза), снижение оттока через НАДН-ГДГ (в 2 раза) и сохранение на уровне нормы притока субстратов через НАДГДГ. Метаболическая значимость снижения активности НАДФГДГ и МДГ также определяется наличием отрицательной корреляционной связи уровней активности данных ферментов и размера опухоли.

Исследована активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого в зависимости от стадии НМРЛ. Обнаружено, что внутриклеточная активность Г6ФДГ резко снижается в корневых лимфоцитах при II стадии заболевания и остается пониженной при III и IV стадиях (рис. 4.12). Аналогичным образом изменяется активность НАДФИЦДГ: в корневых лимфоцитах у больных со II, III и IV стадиями заболевания уровни фермента статистически достоверно ниже, чем при I стадии (рис. 4.12). Активность НАДФМДГ значительно снижается при III стадии НМРЛ (рис. 4.12). Однако, при IV стадии заболевания активность фермента восстанавливается до уровня, выявленного у больных с I и II стадиями. Активность ГР в корневых лимфоцитах постепенно снижается с ростом стадии заболевания и становится статистически достоверно низкой при IV стадии рака легкого (рис. 4.12). Активность НАДФН-ГДГ значительно возрастает в лимфоцитах корневых лимфоузлов у больных со II стадией НМРЛ, при III стадии значительно снижается как относительно

уровня при II стадии, так и уровня при I стадии заболевания (рис. 4.12). Активность НАДФГДГ в клетках иммунной системы крови лимфоцитах лимфоузлов корня легкого не изменяется в зависимости от стадии заболевания.

В зависимости от стадии НМРЛ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого значительно изменяются уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ. Так, активность ГЗФДГ резко снижается (в 7,4 раза) при II стадии заболевания и еще более выражено (относительно уровней при I и II стадиях) – при III и IV стадиях патологического процесса (рис. 4.13). Активность ЛДГ в 4,8 раза снижается в лимфоцитах больных со II стадией заболевания относительно уровня при I стадии (рис. 4.13). Активность фермента сохраняется на данном диапазоне при III стадии заболевания, но при IV стадии несколько повышается относительно диапазона, выявленного при II стадии, оставаясь статистически достоверно более низкой, чем при I стадии рака легкого. Практически подобным же образом в зависимости от стадии рака легкого изменяется активность НАДИЦДГ (рис. 4.13): при II и III стадиях уровни активности фермента значительно ниже, чем при I, но при IV стадии повышаются относительно уровня, выявленного при III стадии, оставаясь статистически ниже, чем при I. В то же время, активность НАДГДГ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого значительно повышается при II стадии НМРЛ, но при III и IV стадиях снижается до исходного уровня (рис. 4.13). Уровни активности НАДН-ЛДГ и НАДН-ГДГ снижены в лимфоцитах корневых лимфоузлов при II стадии заболевания относительно уровня показателей при I стадии, но при III и IV стадиях повышаются до исходного диапазона (рис. 4.13).

При исследовании взаимосвязи между уровнями активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого и размером опухоли в зависимости от стадии НМРЛ обнаружено, что при I стадии заболевания выявляется только одна корреляционная взаимосвязь-размера опухоли с активностью НАДФМДГ ($r = 0,97$, $p = 0,004$); при II стадии с размером опухоли взаимосвязаны уровни активности Г6ФДГ ($r = 0,58$, $p = 0,033$), НАДИЦДГ ($r = 0,74$, $p = 0,008$) и ГР ($r = 0,65$, $p = 0,028$). При III и IV стадиях выявляется только по одной корреляционной связи. При III стадии с размером опухоли отрицательно взаимосвязана активность НАДФГДГ ($r = -0,52$, $p = 0,039$), при IV стадии с размером опухоли также отрицательно коррелирует активность ЛДГ ($r = -0,89$, $p = 0,012$).

Анализ ферментативной активности лимфоцитов корневых лимфоузлов у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания позволяет охарактеризовать метаболические механизмы иммунопатогенеза при канцерогенезе. Так, с развитием заболевания снижается активность Г6ФДГ – ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла, продукты которого определяют интенсивность ряда реакций макромолекулярного синтеза [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др.,

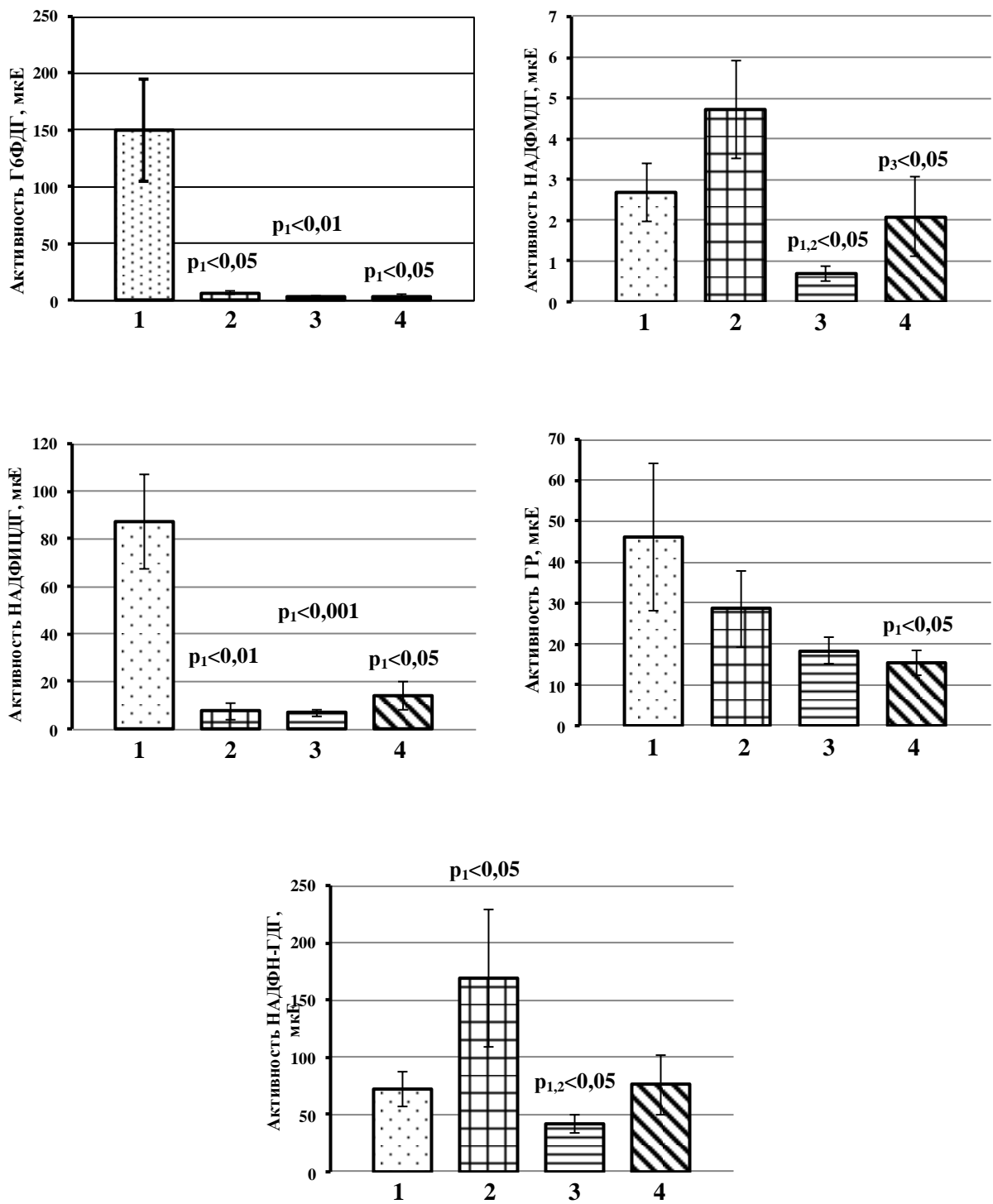


Рис. 4.12. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов корневых лимфоузлов у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания.

1 – I стадия; 2 – II стадия; 3 – III стадия; 4 – IV стадия.

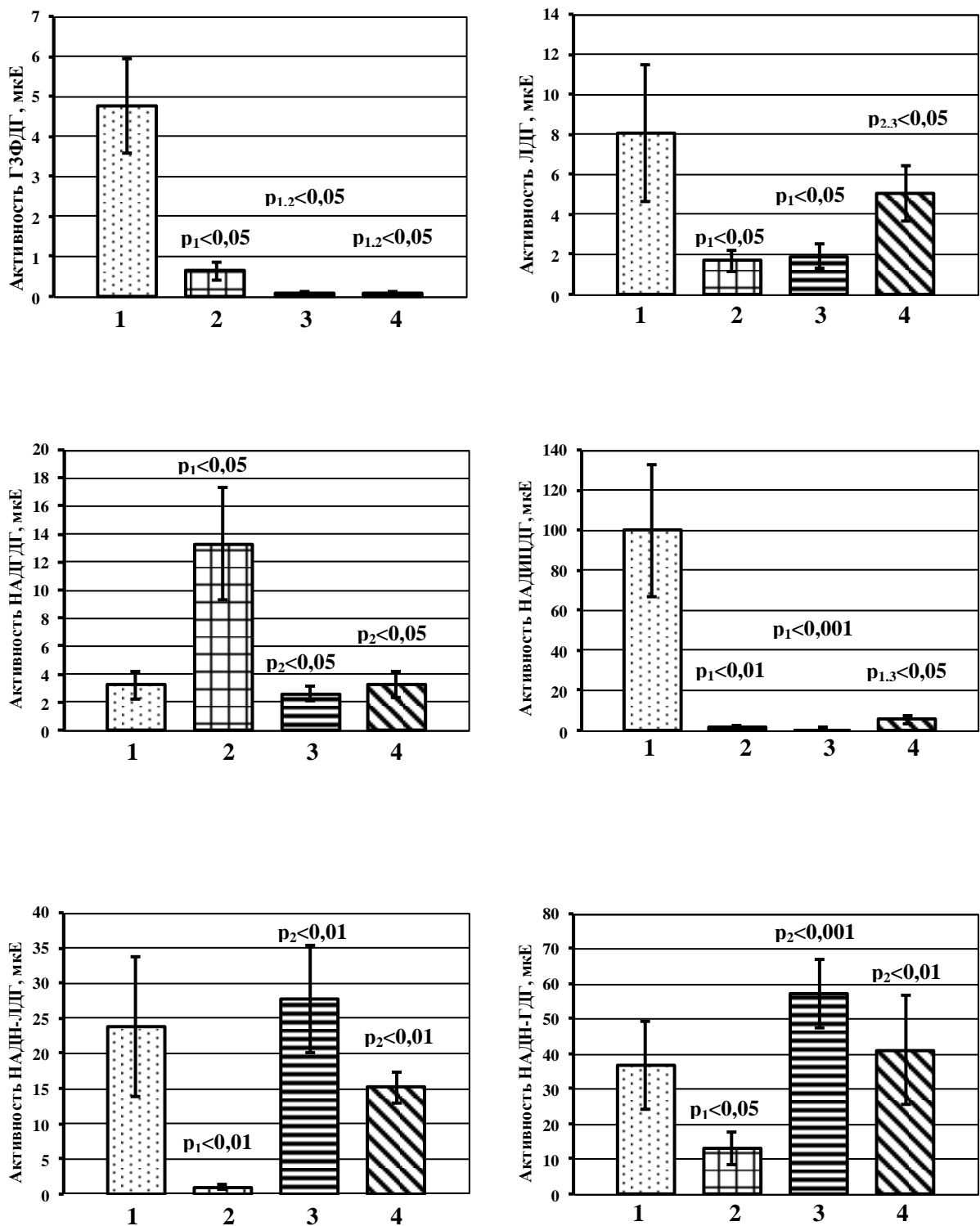


Рис. 4.13. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов корневых лимфоузлов у больных НМРЛ в зависимости от стадии заболевания.

Усл. обозн. см. на рис. 4.12.

2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al., 2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. Следствием подобного снижения активности фермента будет соответственно ингибирование некоторых пластических процессов. Причем необходимо подчеркнуть, что от продуктов пентозофосфатного цикла зависит синтез нуклеотидов и нуклеозидов [Guo L. et al., 2002; Tome M.E. et al., 2006; Cordeiro A.T. et al., 2009; Ortega-Camarillo C. et al., 2009]. Значимость изменения активности ключевой реакции пентозофосфатного цикла также подтверждается наличием положительной взаимосвязи между ее уровнем и размером опухоли у больных со II стадией заболевания. Кроме того, от уровня НАДФН, синтезируемого на начальных стадиях пентозофосфатного цикла, зависит активность ГР – фермента, характеризующего состояние глутатион-зависимой антиоксидантной системы. Отсюда не удивительно, что активность ГР снижается в лимфоцитах лимфоузлов в динамике заболевания. В связи с этим, можно предположить, что начиная со II стадии заболевания лимфоциты лимфоузлов корня легкого более труднее вступают в реакцию бласттрансформации, что соответственно снижает их функциональную активность. При этом установлено, что другой фермент, характеризующий анаболические процессы, – НАДФМДГ снижает активность только в лимфоцитах лимфоузлов при III стадии заболевания. Причем, с помощью корреляционного анализа обнаружена взаимосвязь активности данного фермента с размером опухоли у больных на I стадии заболевания.

Снижение активности ГЗФДГ, которое начинается уже со II стадии заболевания и более выражено при III и IV стадиях, отражает пониженный уровень переноса продуктов липидного катаболизма на реакции гликолиза. Однако, судя по активности анаэробной реакции ЛДГ, интенсивность гликолиза снижается только при II стадии НМРЛ, при остальных стадиях активность гликолиза сохраняется. Уровни активности НАДН-зависимой реакции МДГ (также зависящие от метаболического состояния митохондрий) не изменяются в зависимости от стадии заболевания.

Концентрация пирувата в цитоплазме клеток иммунной системы определяется не только уровнем анаэробного окисления глюкозы, но и активностью аэробной реакции ЛДГ. Обнаружено, что она значительно снижается в лимфоцитах корневых лимфоузлов у больных со II и III стадиями заболевания, тогда как при IV стадии восстанавливается до уровня, соответствующего диапазону, выявленному при I стадии НМРЛ. Кроме того, при IV стадии заболевания отмечена отрицательная взаимосвязь между уровнем активности аэробной реакции ЛДГ и размером опухоли. При исследовании метаболического состояния митохондриального компартмента обнаружено, что активность НАДИЦДГ, характеризующая интенсивность субстратного потока по начальным стадиям цикла трикарбоновых кислот [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Wise D.R. et al., 2011; Zheng J. et al., 2012; Zheng P.P. et al., 2012], в лимфоцитах у больных со II, III и IV стади-

ями заболевания снижена. Причем, наиболее выраженное снижение активности данного фермента проявляется при II и III стадиях НМРЛ. Активность одной из вспомогательных дегидрогеназных реакций лимонного цикла – НАДФИЦДГ – также снижена в клетках иммунной системы лимфоузлов у больных со II, III и IV стадиями заболевания. Приток субстратов через НАДГДГ на цикл трикарбоновых кислот у больных со II стадией заболевания повышается, но при III и IV стадиях вновь понижается до исходного уровня. В то же время уровень оттока субстратов через НАДН-ГДГ и НАДФН-ГДГ скомпенсирован снижением активности НАДН-ГДГ и повышением уровня НАДФН-ГДГ в лимфоцитах лимфоузлов у больных со II стадией НМРЛ. Все это приводит к тому, что активность НАД- и НАДН-зависимых реакций МДГ не изменяются в динамике заболевания.

Таким образом, установлены зависимости метаболического состояния лимфоцитов крови от стадии заболевания. Так, уже при I стадии НМРЛ обнаружено ингибирование анаэробных и аэробных энергетических процессов при снижении активности дегидрогеназных реакций, определяющих состояние пластических и анаболических процессов. При II стадии заболевания выявляется некоторое восстановление интенсивности анаэробного окисления глюкозы при выраженных нарушениях метаболического состояния митохондриального компартмента клеток иммунной системы крови (повышенная активность НАДИЦДГ и ингибирование МДГ). Можно предположить, что ингибирование терминальных стадий цикла трикарбоновых кислот осуществляется за счет повышения оттока субстратов на реакции аминокислотного обмена. В лимфоцитах крови больных с III стадией заболевания сохраняется снижение активности ключевой реакции липидного анаболизма, но при восстановлении активности Г6ФДГ и интенсивности гликолиза. Однако при этом выявленные уровни активности метаболических ферментов митохондриального компартмента клеток иммунной системы позволяют предположить снижение интенсивности аэробных дыхательных процессов. При IV стадии НМРЛ восстанавливается интенсивность метаболических реакций, определяющих интенсивность пластических и анаболических процессов, но при выраженном снижении уровня активности анаэробного окисления глюкозы и аэробных процессов. В зависимости от стадии заболевания значительно изменяется состояние метаболизма клеток иммунной системы в лимфоузлах корня легкого. Причем, наиболее выраженные изменения проявляются при II стадии НМРЛ: снижается активность ферментов, определяющих наработку внутриклеточного пирувата, что влияет на интенсивность субстратного потока по начальным реакциям цикла трикарбоновых кислот. Однако терминальные реакции лимонного цикла сохраняют свою активность на стабильном уровне независимо от стадий заболевания. Также на II стадии в метаболические механизмы реагирования клеток иммунной системы лимфоузлов корня легкого отмечается взаимодействие между интенсивностью суб-

стратных потоков по циклу Кребса и реакциями аминокислотного обмена, однако уже с III стадии интенсивность анаэробного окисления глюкозы восстанавливается. Со II стадии снижается активность ферментов, характеризующих наработку интермедиатов для реакций макромолекулярного синтеза и уровень реакций липидного катаболизма. На III стадии заболевания активность НАДФМДГ снижается, а на IV понижается уровень ГР. В связи с этим можно заключить, что метаболические механизмы функциональных проявлений лимфоцитов региональных лимфоузлов определяются изменением уровней не энергетических процессов, а прежде всего, обменных реакций, влияющих на рецепторные, пластические и антиоксидантные процессы.

4.1.3. Особенности уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в зависимости от полиморфизма гена p53 у больных раком легкого

Особую роль в канцерогенезе играют дефекты генов, контролирующих повреждения ДНК и клеточную пролиферацию. Получены многочисленные данные, указывающие на то, что продукт гена p53 является ключевым для биохимических событий, контролирующих стабильность генома. Обнаружено, что в ответ на повреждение структуры ДНК и другие стрессовые для клетки воздействия быстро повышается продукция p53, это может вызывать либо остановку клеточного цикла, либо апоптоз, а неспособность белка гена p53 дикого типа транслоцироваться в ядро клетки препятствует функционированию гена в качестве супрессора [Gu B., Zhu W.G., 2012; Sahin E., DePinho R.A., 2012; Roemer K., 2012 Wang X., Jiang X., 2012]. Вероятно, именно эта роль белка p53 в качестве “охранника генома” может объяснить то обстоятельство, что ген p53 наиболее часто изменен в опухолях человека. Экспериментально доказано, что мутации или потеря гена p53 способствуют генетической нестабильности, росту и злокачественной трансформации различных соматических клеток. Согласно многочисленным литературным данным, мутации гена p53 способствуют формированию терапевтически резистентных форм опухолей, поскольку они препятствуют индуцированной гибели клеток путем апоптоза [Freed-Pastor W.A., Prives C., 2012; Knappskog S., Lønning P.E., 2012; Miyake N. et al., 2012; Zwang Y. et al., 2012]. Имеются данные, что содержание белка p53 взаимосвязано с активностью антиоксидантных систем. Так, у онкологических больных, как у курящих, так и у некурящих, определено существенное повышение уровня белка p53 и увеличение активности глутатион-S-редуктазы [Миль Е.М. и др., 2012]. Обнаружена обратная корреляция между содержанием малонового диальдегида и активностью глутатион-S-редуктазы в группе курящих здоровых доноров и прямая корреляция между уровнями малонового диальдегида и p53 у онкологических больных.

Доказана взаимосвязь компонентов ферментативной защиты и процессов перекисного окисления липидов с содержанием белков регуляторов апоптоза у здоровых курящих и у пациентов с онкологическими заболеваниями. Таким образом, исследование особенностей уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53 позволит охарактеризовать иммунопатогенез онкологического заболевания в условиях функционирования нормального и мутантного варианта гена p53.

Обнаружено, что в контрольной группе у 69,6 % обследованных выявляется гомозиготное состояние по нормальному аллелю гена p53 и у 30,4 % – гетерозиготное. В данной группе отсутствуют лица с гомозиготным состоянием по мутантному аллелю. У больных НМРЛ в 33,3 % случаев выявлялось гомозиготное состояние по нормальному аллелю гена p53, в 54,7 % – гетерозиготное и в 12,0 % – гомозиготное по мутантному аллелю. Не выявлена зависимость метастазирования в лимфоузлы корня легкого от полиморфизма гена.

При исследовании уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у мужчин контрольной группы и больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что в контрольной группе при гетерозиготном состоянии гена выявляются изменения активности ряда оксидоредуктаз. Так, при гетерозиготном состоянии гена в лимфоцитах крови повышаются уровни активности Г6ФДГ, НАДФМДГ, НАДФИЦДГ, НАДФН-ГДГ (рис. 4.14), Г3ФДГ, ЛДГ, НАДГДГ (рис. 4.15), НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ (рис. 4.16), но при снижении активности МДГ и НАДИЦДГ (см. рис. 4.15).

Подобное состояние уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у мужчин контрольной группы в зависимости от полиморфизма гена p53 позволяет следующим образом охарактеризовать особенности метаболизма клеток иммунной системы. При гетерозиготном состоянии гена p53 повышается интенсивность пластических процессов, которые определяются продуктами пентозофосфатного цикла и соответственно зависят от активности ключевой и инициализирующей реакции – Г6ФДГ. Однако повышенный отток субстратов на пентозофосфатный цикл не снижает интенсивность терминальных реакций гликолиза. Более того, у мужчин данной группы выявляется увеличение в 4,5 раза активности анаэробной реакции ЛДГ по сравнению с уровнем, обнаруженным у мужчин контрольной группы с гомозиготой по нормальному аллелю. Можно предположить, что это связано с выраженным повышением активности Г3ФДГ, приводящей к увеличению субстратной стимуляции гликолиза за счет продуктов липидного катаболизма. В то же время снижение активности НАДИЦДГ и МДГ определяет понижение интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, что может привести к

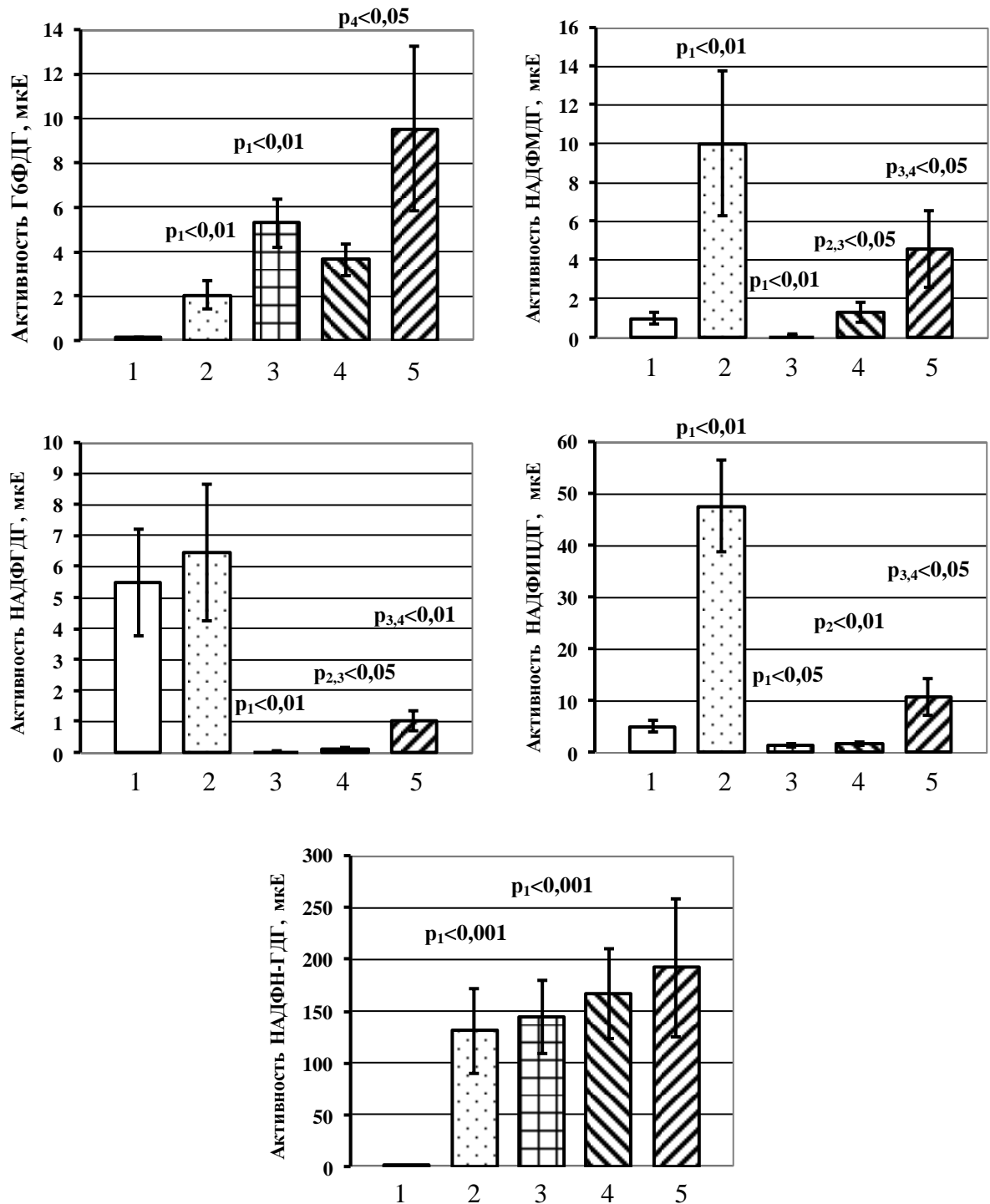


Рис. 4.14. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у здоровых и больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

1 – здоровые мужчины с гомозиготой по нормальному аллелю; 2 – здоровые с гетерозиготным состоянием гена p53; 3 – больные с гомозиготой по нормальному аллелю; 4 – больные с гетерозиготным состоянием гена p53; 5 – больные с гомозиготой по мутантному аллелю.

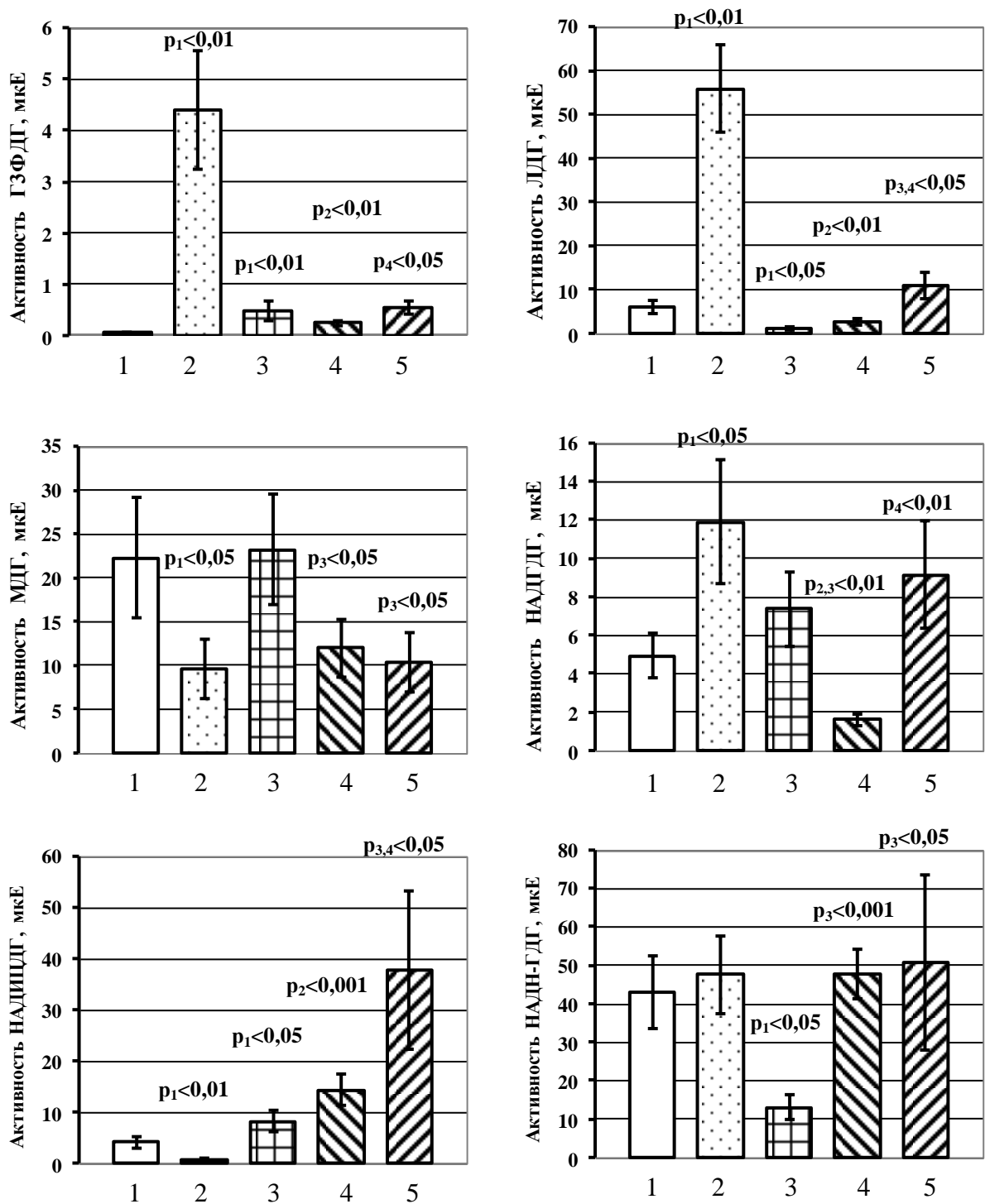


Рис. 4.15. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

Усл. обозн. см. на рис. 4.14.

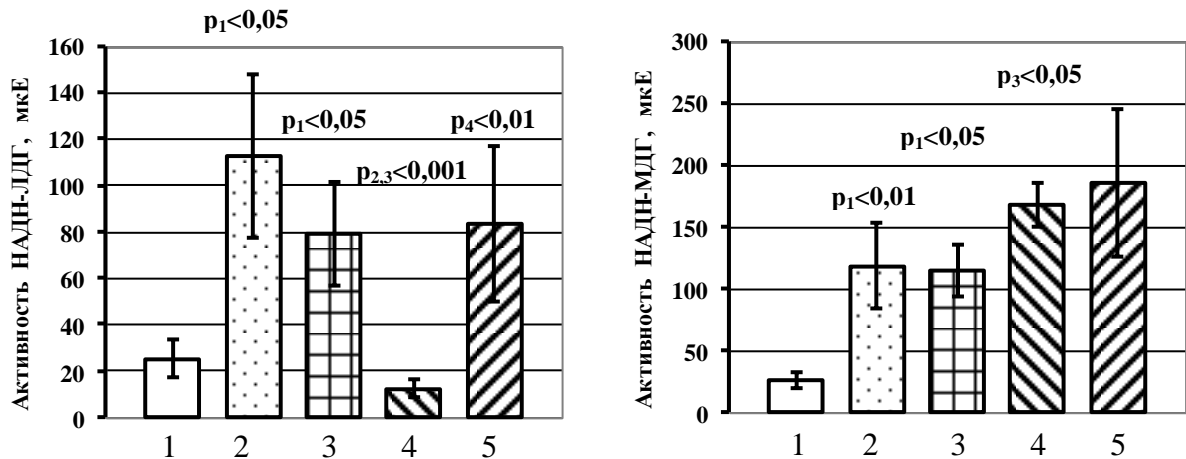


Рис. 4.16. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ и МДГ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

Усл. обозн. см. на рис. 4.14.

ингибированию процессов аэробного дыхания. При этом в метаболической системе у здоровых мужчин с гетерозиготным состоянием гена p53 выявляются изменения активности некоторых оксидоредуктаз, которые направлены на стимуляцию субстратного потока по килу Кребса. Так, повышение активности НАДФИЦДГ – вспомогательной дегидрогеназной реакции, может значительно стимулировать субстратный поток в условиях повышенной концентрации НАДН в митохондриях. Отмечается значительное повышение активности НАДФМДГ, которая является как шунтирующей реакций цикла трикарбоновых кислот, так и ключевой реакцией липидного анаболизма [Куо С.С. et al., 2008; Xu J. et al., 2008; Fu Z.Y. et al., 2009; Hsieh J.Y. et al., 2009]. Кроме того, повышение активности НАДГДГ также направлено на субстратную стимуляцию лимонного цикла продуктами реакций аминокислотного обмена. Вместе с тем выявляется и обратная реакция – повышение активности НАДФН-ГДГ, которая осуществляет НАДФН-зависимый перенос субстратов энергетического обмена на реакции аминокислотного обмена. В целом, метаболизм лимфоцитов у мужчин контрольной группы с гетерозиготным состоянием гена p53 характеризуется повышением активности ряда пластических процессов и терминальных реакций гликолиза, но при ингибировании реакций, определяющих интенсивность аэробных процессов.

При исследовании уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что при гомозиготе по нормальному аллелю у больных относительно показателей аналогичной контрольной груп-

пы повышается активность Г6ФДГ (см. рис. 4.14). В то же время, при гомозиготе по мутантному аллелю выявляется статистически достоверное повышение активности данного фермента относительно уровней, обнаруженных при гетерозиготном состоянии гена.

При гомозиготе по нормальному аллелю в лимфоцитах крови больных мужчин относительно контрольных показателей снижена активность НАДФМДГ (см. рис. 4.14). У больных с гетерозиготным состоянием гена также выявляется снижение активности фермента относительно уровня контрольного диапазона, но в то же время активность статистически достоверно повышена относительно уровня больных с гомозиготой по нормальному аллелю. Наибольшая активность НАДФМДГ в лимфоцитах крови у больных с НМРЛ выявляется при гомозиготе по мутантному аллелю, что является статистически достоверным повышением относительно уровней, выявленных при гомозиготе по нормальному аллелю и гетерозиготным состоянием гена p53.

С повышением степени мутации увеличивается активность НАДФГДГ в лимфоцитах крови у больных раком легкого (см. рис. 4.14). Так, при гомозиготе по нормальному аллелю выявляется минимальная активность фермента, которая является статистически более низкой, чем при гомозиготе по нормальному аллелю в контрольной группе. При гетерозиготном состоянии гена p53 активность фермента статистически достоверно повышается, но остается значительно на более низком уровне по сравнению с аналогичной контрольной группой. Максимальная активность фермента выявляется при гомозиготе по мутантному аллелю.

При гомозиготе по нормальному аллелю также выявляется минимальная активность НАДФИЦДГ в лимфоцитах крови у больных мужчин (см. рис. 4.14), к тому же активность фермента статистически ниже, чем у лиц контрольной группы. При гетерозиготном состоянии активности фермента практически не меняется относительно показателей, выявленных при гомозиготе по нормальному аллелю, но остается статистически ниже, чем у лиц аналогичной контрольной группы. При гомозиготе по мутантному аллелю выявляется максимальная активность фермента.

В лимфоцитах крови у больных НМРЛ при гомозиготе по нормальному аллелю активность НАДФН-ГДГ значительно выше, чем в контрольной группе. В то же время, от уровня мутации гена p53 активность фермента не зависит.

У больных с гомозиготой по нормальному аллелю выявляется повышение активности Г3ФДГ в лимфоцитах крови относительно контрольного диапазона (см. рис. 4.15). При гетерозиготном состоянии гена p53 установлено выраженное снижение активности данного фермента относительно показателей аналогичной контрольной группы, однако статистически достоверного снижения относительно уровня, выявленного у больных с гомозиготой по нормальному аллелю, не обнаружено. При гомозиготе по му-

тантному аллелю обнаружено статистически достоверное повышение активности ГЗФДГ относительно уровня, обнаруженного у больных с гетерозиготным состоянием гена.

При гомозиготе по нормальному аллелю у больных раком легкого в лимфоцитах крови снижена активность ЛДГ (см. рис. 4.15). При гетерозиготном состоянии уровень активности фермента также снижен относительно контрольного диапазона. В то же время, при гомозиготе по мутантному аллелю гена р53 уровень активности фермента статистически достоверно превышает диапазоны, выявленные при гомозиготе по нормальному аллелю и при гетерозиготном состоянии.

Уровень активности МДГ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ при гомозиготе по нормальному аллелю гена р53 не изменяется относительно контрольного диапазона (рис. 4.15). Однако при гетерозиготном и гомозиготном состояниях по мутантному аллелю активность фермента значительно снижается относительно уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю.

У больных раком легкого с гомозиготой по нормальному аллелю гена р53 в лимфоцитах крови активность НАДГДГ не отличается от контрольного уровня (рис. 4.15). При гетерозиготном состоянии активность фермента значительно снижена как относительно контрольного диапазона, так и относительно уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю. Однако при гомозиготе по мутантному аллелю активность НАДГДГ становится статистически достоверно выше, чем при гетерозиготном состоянии.

Активность НАДИЦДГ в лимфоцитах крови у больных мужчин с гомозиготой по нормальному аллелю статистически достоверно превышает контрольный диапазон (см. рис. 4.15). При гетерозиготном состоянии гена р53 активность фермента также превышает контрольный диапазон, но не отличается от уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю. В то же время, при гомозиготе по мутантному аллелю активность фермента в лимфоцитах крови больных выявляется на максимальном уровне и статистически достоверно превышает уровни, выявленные при гомозиготе по нормальному аллелю и гетерозиготном состоянии.

У больных раком легкого с гомозиготой по нормальному аллелю в лимфоцитах крови снижена активность НАДН-ГДГ относительно контрольного диапазона (см. рис. 4.15). При гетерозиготном состоянии и гомозиготе по мутантному аллелю активность фермента статистически достоверно превышает уровень, выявленный при гомозиготе по нормальному аллелю.

Активность НАДН-ЛДГ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ с гомозиготой по нормальному аллелю статистически достоверно выше, чем у мужчин контрольной группы (см. рис. 4.16). При гетерозиготном состоянии гена р53 активность данного фермента значительно снижена как отно-

сительно контрольного диапазона, так и относительно уровня, выявленно-го у больных с гомозиготой по нормальному аллелю. При гомозиготе по мутантному аллелю активность НАДН-ЛДГ восстанавливается до диапазона, выявленного у больных с гомозиготой по нормальному аллелю, и становится статистически достоверно выше, чем у больных с гетерозиготным состоянием гена p53.

У больных мужчин с гомозиготой по нормальному аллелю в лимфоцитах крови относительно контрольного диапазона повышена активность НАДН-МДГ (см. рис. 4.16). При гетерозиготном состоянии гена p53 активность фермента статистически достоверно повышается относительно уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю.

При исследовании взаимосвязей между уровнями активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови больных НМРЛ и размером опухоли в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что при гомозиготе по нормальному аллелю выявляется единственная взаимосвязь размера опухоли с активностью НАДГДГ ($r = -0,70$, $p = 0,005$). У больных с гетерозиготным состоянием гена p53 с размером опухоли взаимосвязаны уровни активности ГЗФДГ ($r = -0,44$, $p = 0,032$), НАДФМДГ ($r = -0,57$, $p = 0,008$), НАДФГДГ ($r = -0,55$, $p = 0,009$), МДГ ($r = -0,44$, $p = 0,032$) и НАДФН-ГДГ ($r = -0,46$, $p = 0,025$). При гомозиготе по мутантному аллелю взаимосвязей между размером опухоли и активностью исследуемых метаболических ферментов лимфоцитов крови не обнаружено.

Анализ уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ позволяет охарактеризовать особенности метаболических процессов в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53. Так, у больных НМРЛ с гомозиготой по нормальному аллелю гена p53 относительно контроля повышена активность ключевой и иницирующей реакции пентозофосфатного цикла – Г6ФДГ. Повышение активности данного фермента вызывает повышенный синтез НАДФН и рибозо-5-фосфата и соответственное увеличение интенсивности процессов макромолекулярного синтеза, зависящих от продуктов пентозофосфатного цикла. Известно, что Г6ФДГ является основным конкурентом гликолиза за субстрат и отток субстратов на пластические процессы может привести к снижению активности анаэробного окисления глюкозы [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Snoer J.L. et al., 1996; Ramnanan C.J., Storey K.V., 2006; Mailloux R.J., Harper M.E., 2010]. Однако, повышенный уровень переноса продуктов липидного катаболизма через ГЗФДГ на окислительно-восстановительные реакции гликолиза не только восстанавливает, но и увеличивает интенсивность терминальных реакций гликолиза, что проявляется через активацию анаэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах крови у больных данной группы. Исходя из повышенной активности НАДИЦДГ, можно заключить, что в лимфоцитах крови у больных с гомозиготой по нормальному аллелю гена p53 интенсивность субстратного потока на уровне начальных реакций

цикла трикарбоновых кислот повышена. Причем, высокий уровень субстратного потока на начальном этапе лимонного цикла осуществляется на фоне снижения интенсивности вспомогательных дегидрогеназных реакций НАДФИЦДГ и НАДФГДГ. В то же время, активность МДГ у больных мужчин данной группы соответствует контрольному диапазону, что характеризует нормализацию интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот на уровне терминальных реакций. Подобное состояние интенсивности субстратного потока по циклу Кребса может быть связано с выраженным увеличением оттока субстратов на реакции аминокислотного обмена через НАДФН-ГДГ. Причем, необходимо отметить, что активность НАДН-ГДГ значительно снижена. По-видимому, высокая интенсивность работы дыхательной цепи и НАД-зависимых дегидрогеназ лимонного цикла ограничивают возможность использования данного кофактора для стимуляции реакций аминокислотного обмена. Повышение активности НАДН-зависимой реакции МДГ отражает повышенную интенсивность водородного шунта, возможность осуществления аэробного дыхания и также является конкурентной по отношению к НАДН-ГДГ. Кроме того, у больных с гомозиготой по нормальному аллелю выявляется сниженная активность НАДФМДГ – шунтирующей реакции цикла Кребса, которая также является ключевой в процессах липидного анаболизма [Kuo C.C. et al., 2008; Xu J. et al., 2008; Fu Z.Y. et al., 2009; Hsieh J.Y. et al., 2009]. Между тем у больных данной группы выявлена единственная отрицательная взаимосвязь между размером опухоли и уровнем активности НАДГДГ. По-видимому, именно субстратная компенсаторная недостаточность НАДГДГ и характеризует функциональную недостаточность лимфоцитов.

В целом можно заключить, что метаболизм клеток иммунной системы крови у больных НМРЛ с гомозиготой по нормальному аллелю активирован. Повышен уровень пластических и энергетических процессов, увеличена интенсивность субстратного стимулирования реакций аминокислотного обмена. Однако повышенный уровень реакций, определяющих интенсивность аэробного дыхания, проявляется на фоне развития конкурентных взаимоотношений в митохондриальном компартменте. Значимость интенсивности реакций лимонного цикла в проявлении функциональной активности лимфоцитов крови подтверждается результатами корреляционного анализа. Сниженная активность ключевой реакции липидного анаболизма и стимулирование анаэробного окисления глюкозы может привести к понижению липидного пула лимфоцитов крови и нарушению мембранных процессов.

При гетерозиготном состоянии гена p53 у больных НМРЛ в лимфоцитах крови выявляется снижение активности ГЗФДГ. По-видимому, в связи с понижением уровня стимулирования реакций анаэробного окисления глюкозы продуктами липидного катаболизма снижается активность анаэробной реакции ЛДГ, которая характеризует интенсивность терми-

нальных реакций гликолиза. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот определяется высоким (относительно контрольного диапазона) уровнем НАДИЦДГ и сохранением на уровне контрольного диапазона активности МДГ. Причем, также как и при гомозиготе по нормальному аллелю в лимфоцитах крови у больных мужчин с гетерозиготным состоянием гена *p53* высокий уровень субстратного потока на начальном этапе цикла трикарбоновых кислот сопровождается сниженными уровнями вспомогательных дегидрогеназных реакций. Сходство метаболических процессов в клетках иммунной системы крови у больных при гомозиготе по нормальному аллелю и гетерозиготном состоянии гена *p53* добавляют высокий уровень НАДН-зависимой реакции МДГ и низкая активность малик-фермента. В то же время, интенсивность субстратного взаимодействия цикла трикарбоновых кислот с реакциями аминокислотного обмена снижена. Так, установлено снижение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ, осуществляющих перенос субстратов на реакции лимонного цикла. При этом уровень НАДН- и НАДФН-зависимых глутаматдегидрогеназ соответствует контрольному диапазону. Необходимо отметить, повышенную (по сравнению с уровнем при гомозиготе по нормальному аллелю) активность НАДН-зависимой реакции МДГ, которая является ключевой в системе малат-аспартатного водородного шунта митохондрий [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Magori E. et al., 2005; Mali Y., Zisapel N., 2009]. С помощью корреляционного анализа установлено, что размер опухоли зависит от интенсивности реакций липидного обмена (ГЗФДГ и НАДФМДГ), МДГ и НАДФ-зависимых реакций субстратного обмена между циклом трикарбоновых кислот и реакциями аминокислотного обмена.

Следовательно, в метаболизме лимфоцитов крови у больных НМРЛ с гетерозиготным состоянием гена *p53* уровень пластических процессов соответствует контрольному диапазону. Выявляется снижение активности анаэробного окисления глюкозы. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот соответствует уровню, выявленному у больных с гомозиготой по нормальному аллелю. Однако уровень взаимодействия между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена в целом снижен, тогда как активность малат-аспартатного водородного шунта – повышена. С помощью корреляционного анализа подтверждается значимость реакций липидного обмена и осуществляющих субстратное взаимодействие между лимонным циклом и аминокислотным обменом, а также интенсивностью терминальных реакций цикла Кребса в проявлении функциональной активности клеток иммунной системы.

При гомозиготе по мутантному аллелю в лимфоцитах крови больных НМРЛ выявляется максимальная активность Г6ФДГ и ГЗФДГ среди обследуемых групп пациентов. Отток субстратов на пластические процессы с реакций гликолиза компенсируется притоком интермедиатов с реакций

липидного катаболизма, в связи с чем активность анаэробной реакции ЛДГ выше, чем у больных с гетерозиготным состоянием гена p53 и соответствует уровню, выявленному у больных с гомозиготой по нормальному аллелю. У больных мужчин с гомозиготой по мутантному аллелю состояние метаболизма митохондриального компартмента характеризуется высоким уровнем НАДИЦДГ и самой низкой активностью МДГ. Высокий уровень субстратного потока по лимонному циклу на уровне НАДИЦДГ также поддерживается повышенной активностью НАДФИЦДГ (в 8,0 раз по сравнению с уровнем при гомозиготе по нормальному аллелю и в 6,2 раза – по сравнению с уровнем при гетерозиготном состоянии). Характерной особенностью для больных с гомозиготой по мутантному аллелю является повышение НАДН-зависимого оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена и сохранение активности НАДФН-ГДГ. В то же время, повышается и активность ферментов, которые осуществляют перенос субстратов с реакций аминокислотного обмена на цикл Кребса – через НАДГДГ и НАДФГДГ. Уровень реакций цикла трикарбоновых кислот поддерживается высоким уровнем шунтирующей реакции – НАДФМДГ.

В целом, метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с гомозиготой по мутантному аллелю характеризуется повышенным оттоком субстратов на реакции пластического обмена, стимуляцией гликолиза продуктами липидного катаболизма и высоким уровнем реакций начального этапа цикла трикарбоновых кислот. Однако терминальные реакции лимонного цикла находятся на низком уровне, что может сопровождаться ингибированием процессов аэробного дыхания. Возможно, это связано с повышением интенсивности НАДН-зависимого оттока субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена. Отсутствие взаимосвязей между размером опухоли и активностью НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови при гомозиготе по мутантному аллелю гена p53 характеризует регуляторную разобщенность метаболических процессов клеток иммунной системы в проявлении их функциональной активности.

При исследовании активности НАДФ- и НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что активность Г6ФДГ значительно повышается при гетерозиготном состоянии гена p53 по сравнению с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю, в то время как при гомозиготе по мутантному аллелю также установлено повышение активности фермента, но статистически менее выраженное, чем у больных с гетерозиготным состоянием гена (рис. 4.17). Активность НАДФМДГ в лимфоцитах лимфоузлов региональных лимфоузлов снижается при гетерозиготном состоянии гена, тогда как при гомозиготе по мутантному аллелю уровень фермента значительно повышается (рис. 4.17). В то же время, внутриклеточная активность НАДФГДГ значительно

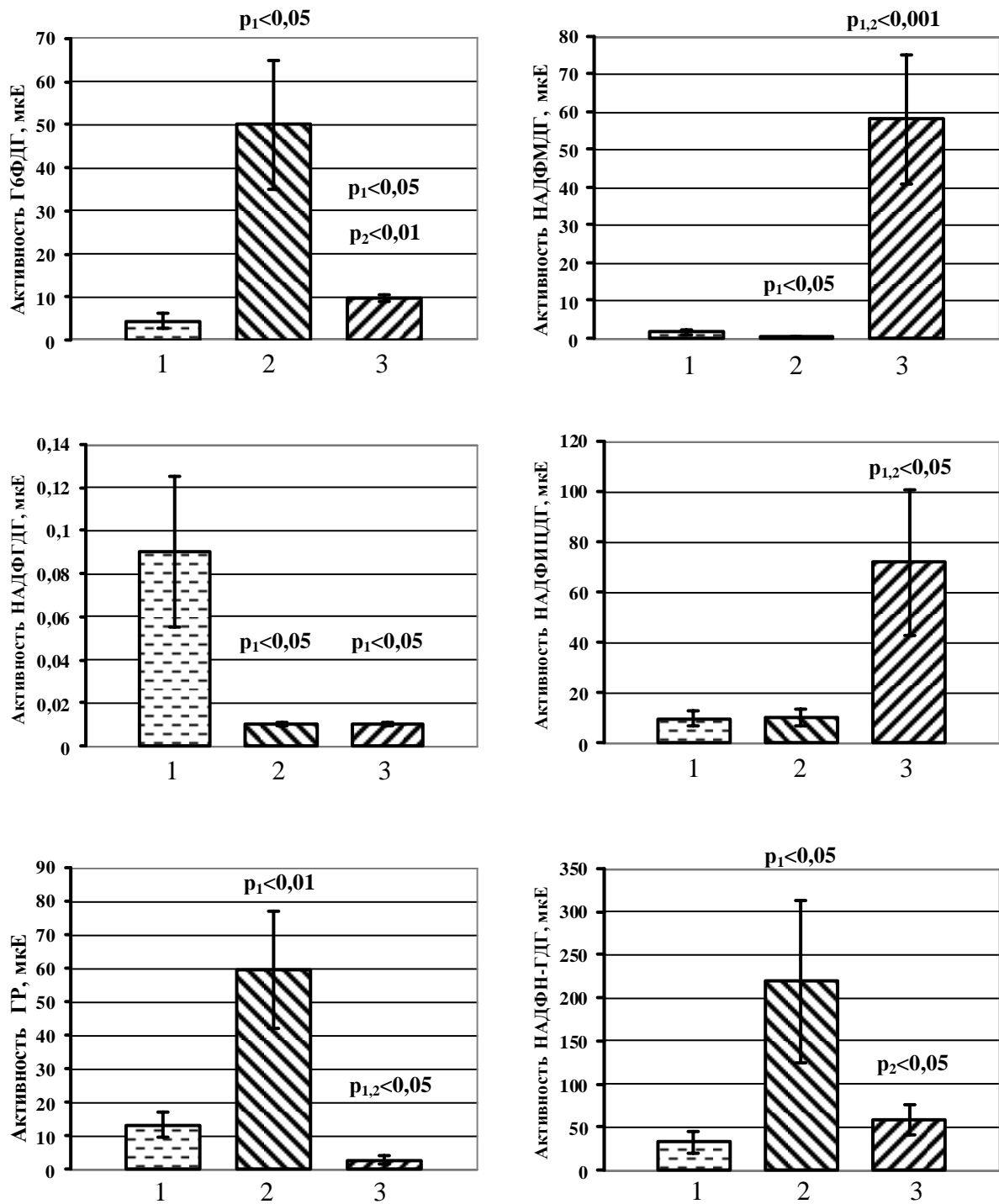


Рис. 4.17. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

1 – гомозигота по нормальному аллелю; 2 – гетерозиготное состояние; 3 – гомозигота по мутантному аллелю.

снижается у больных мужчин с гетерозиготным состоянием гена и гомозиготой по мутантному аллелю относительно уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю (рис. 4.17). Активность НАДФИЦДГ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого при гетерозиготном состоянии гена p53 соответствует диапазону, выявленному при гомозиготе по нормальному аллелю (рис. 4.17). Однако при гомозиготе по мутантному аллелю выявляется выраженное увеличение активности фермента как относительно уровня, выявленного при гомозиготе по нормальному аллелю, так и относительно диапазона, обнаруженного при гетерозиготном состоянии. Активность ГР в 4,5 раза повышена в лимфоцитах лимфоузлов у больных с гетерозиготным состоянием гена p53 (рис. 4.17). При гомозиготе по мутантному аллелю уровень фермента значительно снижается по сравнению как с активностью, выявленной при гомозиготе по нормальному аллелю, так и с диапазоном, установленным при гетерозиготном состоянии гена. При гетерозиготном состоянии активность НАДФН-ГДГ повышается относительно уровней, выявленных при гомозиготах по нормальному и мутантному аллелях (рис. 4.17).

При исследовании уровней активности НАД-зависимых дегидрогеназ установлено, что активность ГЗФДГ повышена в лимфоцитах крови больных с гетерозиготным состоянием гена p53 по сравнению с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю (рис. 4.18). В то же время, при гомозиготе по мутантному аллелю обнаружено еще более выраженное увеличение активности фермента по сравнению как с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю, так и с диапазоном, установленным при гетерозиготном состоянии гена. Уровни активности ЛДГ и МДГ повышены в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных с гомозиготой по мутантному аллелю по сравнению с диапазонами, выявленными у больных с гомозиготой по нормальному аллелю и при гетерозиготном состоянии гена (рис. 4.18). Активность НАДГДГ в 2,8 раза повышена в лимфоцитах лимфоузлов при гетерозиготном состоянии гена p53 по сравнению с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю (рис. 4.18). В то же время, при гомозиготе по мутантному аллелю активность фермента повышается еще выраженнее: в 9,6 раза по сравнению с выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю и в 3,4 раза по сравнению с обнаруженным уровнем при гетерозиготном состоянии. Максимальная активность НАДИЦДГ установлена в лимфоцитах больных с гетерозиготным состоянием гена p53 (рис. 4.18). При гомозиготе по мутантному аллелю активность фермента также увеличивается по сравнению с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю, но остается статистически ниже, чем у больных с гетерозиготным состоянием гена p53.

Максимальная активность НАДН-ЛДГ обнаружена в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ при гомозиготе по нормаль-

ному аллелю (рис. 4.19). При гетерозиготном состоянии активность фермента снижается по сравнению с уровнем, выявленном при гомозиготе по нормальному аллелю. В то время как при гомозиготе по мутантному аллелю выявляется еще более выраженное снижение активности оксидоредуктазы. Активность НАДН-МДГ значительно понижена в лимфоцитах лимфоузлов у больных с гомозиготой по нормальному аллелю по сравнению с уровнями, выявленными при гомозиготе по нормальному аллелю и гетерозиготном состоянии гена p53 (рис. 4.19).

При исследовании корреляционных связей между размером опухоли и уровнями активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что при гомозиготе по нормальному аллелю выявляется единственная взаимосвязь: размер опухоли – активность ГР ($r = -0,88$, $p = 0,0038$). В то же время при гетерозиготном состоянии гена p53 с размером опухоли взаимосвязаны уровни активности НАДН-МДГ ($r = 0,76$, $p = 0,021$) и НАДФН-ГДГ ($r = -0,76$, $p = 0,021$).

Следовательно, при гомозиготе по нормальному аллелю в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ выявляется минимальный отток субстратов на пластические процессы через Г6ФДГ. В связи с этим, даже низкая активность Г3ФДГ и соответственно субстратное стимулирование продуктами липидного катаболизма у больных данной группы не приводит к понижению интенсивности анаэробного окисления глюкозы: активность анаэробной реакции ЛДГ – максимальна. Низкий уровень Г6ФДГ, тем не менее, не приводит к выраженному ингибированию активности ГР. Возможно, это связано с достаточной активностью НАДФМДГ. Кроме того, установленная отрицательная взаимосвязь между размером опухоли и активностью ГР определяет высокую значимость последней в проявлении функциональной активности клеток иммунной системы. Метаболизм в митохондриальном компартменте лимфоцитов у больных данной группы находится на минимальном уровне в сравнении с показателями, выявленными при гетерозиготном состоянии и гомозиготе по мутантному аллелю. Это связано, прежде всего, с низкой активностью НАДИЦДГ и НАДГДГ. Несколько более высокая активность МДГ может быть связана с высоким уровнем вспомогательной дегидрогеназной реакцией НАДФГДГ и уровнем шунтирующей реакции НАДФМДГ. Кроме того, необходимо отметить, что активность НАДФН-ГДГ у больных с гомозиготой по нормальному аллелю находится на низком уровне, что определяет пониженную интенсивность НАДФН-зависимого оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена.

При гетерозиготном состоянии гена p53 у больных НМРЛ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого значительно возрастает уровень оттока субстратов через Г6ФДГ на пластические процессы. Причем, активность

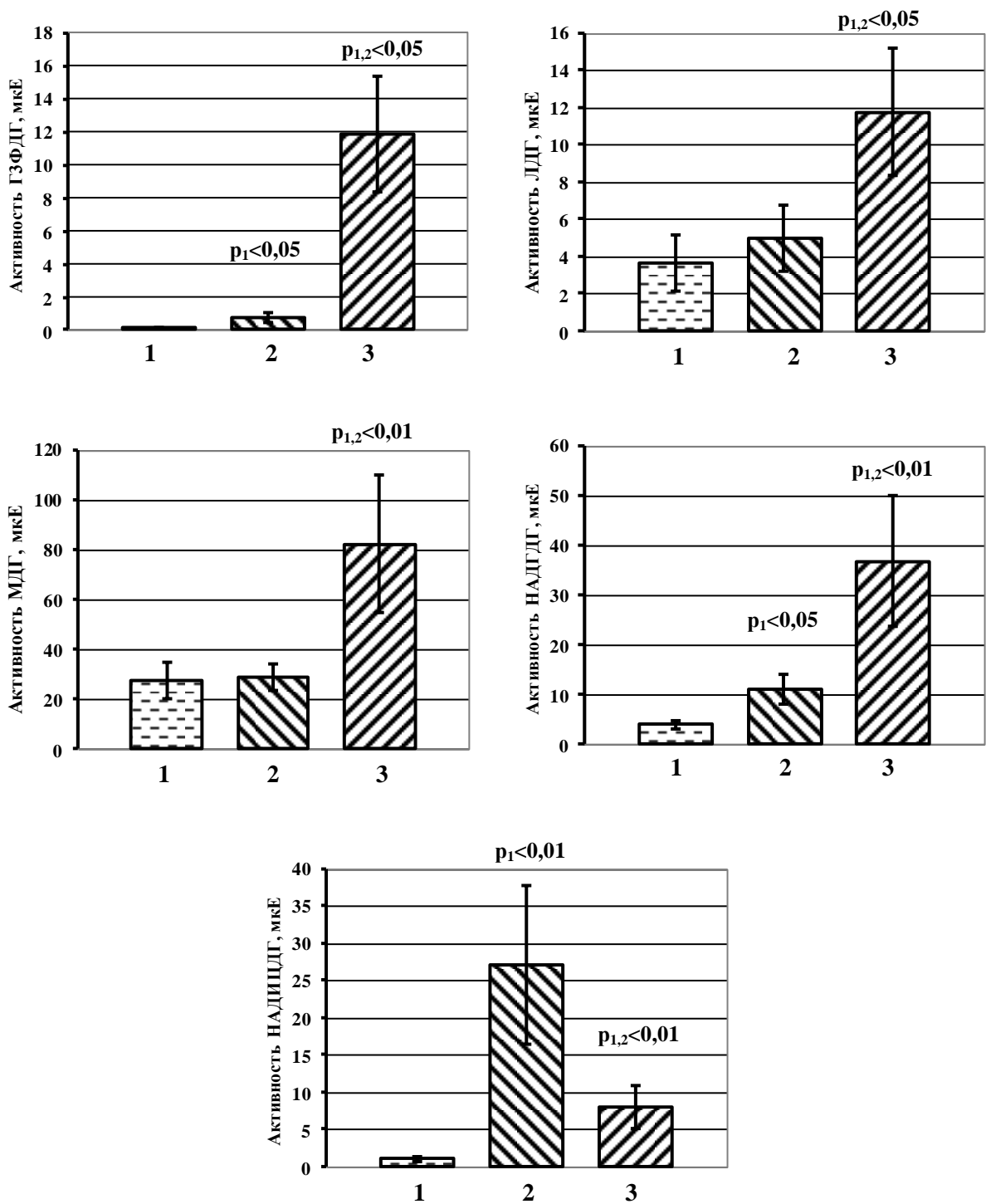


Рис. 4.18. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

Усл. обозн. см. на рис. 4.17.

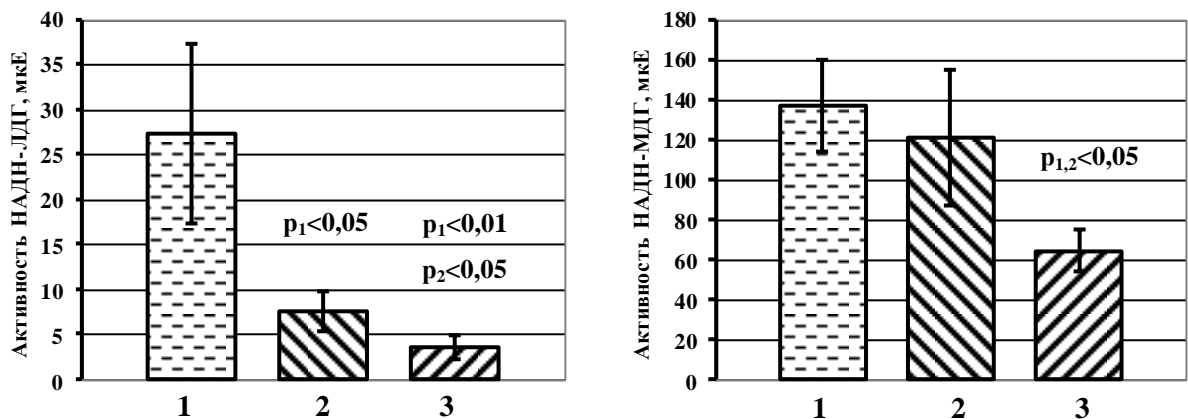


Рис. 4.19. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ (а) и МДГ (б) в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена p53.

Усл. обозн. см. на рис. 4.17.

фермента настолько значительна, что, несмотря на увеличение уровня ГЗФДГ и соответствующего субстратного стимулирования гликолиза продуктами липидного катаболизма, активность анаэробной реакции ЛДГ значительно понижена по сравнению с уровнем, выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю. Значительно повышается активность ГР – фермента, характеризующего состоянием антиоксидантной глутатион-зависимой системы [Сафонова О.А. и др., 2011; Ефременко Е.С. и др., 2012; Waggiallah H., Alzohairy M., 2011; Djukic M.M. et al., 2012; Niedźwiedz A. et al., 2012; Yan J. et al., 2012]. Причем, определенную роль в стимулировании активности ГР осуществляет повышенный уровень Г6ФДГ [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ninfali P. et al., 1996; Bülbül M., Erat M., 2008; Tandogan B. et al., 2011]. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот характеризуется повышенным уровнем НАДИЦДГ и неизменной (по сравнению с выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю) активностью МДГ. По-видимому, снижение интенсивности субстратного потока на уровне терминальных реакций цикла трикарбоновых кислот при гетерозиготном состоянии гена p53 определяется повышением активности НАДФН-ГДГ в 6,8 раз и соответственно усилением интенсивности НАДФН-зависимого оттока субстратов лимонного цикла на реакции аминокислотного обмена. При этом уровень НАД-зависимого притока субстратов с реакций аминокислотного обмена на цикл трикарбоновых кислот повышается в 2,8 раза, тогда как активность НАДФГДГ снижается. Необходимо отметить появление у больных данной группы отрицательной взаимосвязи между размером опухоли и уровнем активности НАДФН-ГДГ.

По-видимому, подобный отток субстратов стимулирует ряд важных для иммунной системы веществ, что в целом приводит к снижению скорости роста опухоли. Между тем положительная взаимосвязь между размером опухоли и активностью НАДН-зависимой реакцией МДГ отражает, вероятно, что повышение интенсивности аэробных процессов может снижать уровень иммунореактивности. Нарушение метаболического статуса митохондриального компартмента лимфоцитов лимфоузлов при гетерозиготном состоянии гена p53 также определяется ингибированием активности НАДФМДГ – фермента, который осуществляет шунтирующую реакцию для цикла Кребса и является ключевым в системе липидного анаболизма. При этом понижение реакций анаболизма липидов при повышенном уровне их катаболических процессов также может привести к нарушению липидного обмена в целом и мембранных свойств клеток иммунной системы лимфоузлов корня легкого.

Состоянием метаболизма лимфоцитов лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ при гомозиготе по нормальному аллелю характеризуется менее выраженной, но тем не менее повышенной (по сравнению с уровнем при гомозиготе по нормальному аллелю) активностью Г6ФДГ. Отток субстратов на пластический обмен с гликолиза должен компенсироваться притоком интермедиатов через Г3ФДГ. Однако у больных с гомозиготой по мутантному аллелю выявляется наименьшая активность анаэробной реакции ЛДГ, характеризующей интенсивность терминальных реакций анаэробного окисления глюкозы. Необходимо также отметить, что повышение активности Г3ФДГ, косвенно характеризующей интенсивность липидного катаболизма, в лимфоцитах больных данной группы совпадает с высоким уровнем НАДФМДГ, которая является ключевой в системе липидного анаболизма. Кроме того, у больных данной группы выявляется наименьшая активность ГР, что может привести к активации перекисных процессов. В лимфоцитах региональных лимфоузлов у больных с гомозиготой по мутантному аллелю повышается интенсивность субстратного потока на всем протяжении цикла трикарбоновых кислот (высокая активность НАДИЦДГ и МДГ). Причем, подобное проявляется на фоне высокой активности вспомогательной реакции НАДФИЦДГ и притока субстратов с реакций аминокислотного обмена через НАДГДГ. Следовательно, в клетках иммунной системы лимфоузлов у больных данной группы интенсивность реакций, поддерживающих аэробные процессы, определяется субстратами аминокислотного обмена.

Таким образом, при исследовании особенностей метаболизма лимфоцитов крови и лимфоузлов корня легкого у больных раком легкого в зависимости от полиморфизма гена p53 обнаружено, что при гомозиготе по нормальному аллелю в клетках иммунной системы крови повышен уровень пластических и энергетических процессов, увеличена интенсивность субстратного стимулирования реакций аминокислотного обмена. Однако

повышенный уровень реакций, определяющих интенсивность аэробного дыхания, проявляется на фоне развития конкурентных взаимоотношений в митохондриальном компартменте. Значимость интенсивности реакций лимонного цикла в проявлении функциональной активности лимфоцитов крови подтверждается результатами корреляционного анализа. Сниженная активность ключевой реакции липидного анаболизма и стимулирование анаэробного окисления глюкозы может привести к понижению липидного пула лимфоцитов крови и нарушению мембранных процессов. В лимфоцитах лимфоузлов корня легкого выявляется минимальный отток субстратов на пластические процессы, но при высоком уровне терминальных реакций гликолиза. Уровень состояния метаболизма в митохондриальном компартменте находится на минимальном уровне в сравнении с показателями, выявленными при гетерозиготном состоянии и гомозиготе по мутантному аллелю. Метаболизм лимфоцитов крови у больных с гетерозиготным состоянием гена р53 характеризуется снижением активности анаэробного окисления глюкозы. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот соответствует уровню, выявленному у больных с гомозиготой по нормальному аллелю. Однако уровень взаимодействия между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена в целом снижен, тогда как активность малат-аспартатного водородного шунта – повышена. С помощью корреляционного анализа подтверждается значимость реакций липидного обмена и осуществляющих субстратное взаимодействие между лимонным циклом и аминокислотным обменом, а также интенсивностью терминальных реакций цикла Кребса в проявлении функциональной активности клеток иммунной системы. В лимфоцитах лимфоузлов повышается активность пластических процессов, зависящих от интенсивности пентозофосфатного цикла. В связи с этим, независимо от компенсаторного повышения Г3ФДГ понижается интенсивность анаэробного дыхания клеток. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот характеризуется повышенным уровнем НАДИЦДГ и неизменной (по сравнению с выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю) активностью МДГ, что определяется НАДФН-зависимым оттоком субстратов на реакции аминокислотного обмена. Метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с гомозиготой по мутантному аллелю характеризуется повышенным оттоком субстратов на реакции пластического обмена, стимуляцией гликолиза продуктами липидного катаболизма и высоким уровнем реакций начального этапа цикла трикарбоновых кислот. Однако терминальные реакции лимонного цикла находятся на низком уровне, что может сопровождаться ингибированием процессов аэробного дыхания. Состоянием метаболизма лимфоцитов лимфоузлов корня легкого характеризуется повышенной активностью Г6ФДГ, очень низкой интенсивностью анаэробного окисления глюкозы, но при повышении уровней ферментов, определяющих аэробное дыхание клеток.

4.1.4. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных раком легкого в зависимости от полиморфизма гена GSTM1

Среди важнейших факторов риска развития рака легкого выделяют повышение степени загрязненности окружающей среды различными потенциальными канцерогенами и генетические факторы предрасположенности, основными из которых являются мутации генов метаболизма ксенобиотиков [Lee K.M. et al., 2008; Sobti R.C. et al., 2008; Cabral R.E. et al., 2010; Tamaki Y. et al., 2011; Li W. et al., 2012; Pliarchopoulou K. et al., 2012]. Биотрансформация ксенобиотиков происходит в несколько этапов. Основу первого этапа составляют реакции окисления, восстановления и гидролиза молекул ксенобиотика монооксигеназной системой. На втором этапе, осуществляемом ферментами второй фазы биотрансформации, происходит конъюгация, восстановление или гидролиз промежуточных метаболитов ксенобиотиков. Среди ферментов второй фазы биотрансформации наиболее распространено суперсемейство глутатион-S-трансфераз – большая группа ферментов, которая подразделяется на 4 класса: α , μ , π и θ [Shukla R.K. et al., 2010; Tew K.D. et al., 2011; Raza H., 2011; Braeuning A., 2012]. Глутатион-S-трансфераза катализирует конъюгацию восстановленного глутатиона с множеством электрофильных субстратов, участвует в метаболизме простагландинов, лейкотриенов, транспорте стероидных гормонов, играет важную роль в защите клетки от продуктов перекисного окисления. Полиморфизм в гене GSTM1, который кодирует глутатион-S-трансферазу класса μ , определяется делецией по обоим аллелям и проявляется полным отсутствием белкового продукта и соответственно выраженным ингибированием активности фермента [Sobti R.C. et al., 2008; Shukla R.K. et al., 2010; Tamaki Y. et al., 2011; Braeuning A., 2012; Li W. et al., 2012]. В связи с этим, нами исследованы особенности состояния иммунного статуса и активность метаболических ферментов лимфоцитов у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.

Обнаружено, что делеционный вариант гена GSTM1 (GSTM1 0/0) выявляется у 18,8 % лиц контрольной группы и 36,8 % обследованных больных с НМРЛ.

При исследовании уровней активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1 обнаружено, что у больных с генотипом GSTM1+ относительно контрольного диапазона понижена активность Г6ФДГ, НАДФМДГ, НАДФГДГ и НАДФИЦДГ, но при увеличении уровня ГР (рис. 4.20). У больных с делецией GSTM1 относительно контрольного диапазона снижена активность НАДФГДГ и НАДФИЦДГ, но при увеличении уровня ГР. Установлено, что в зависимости от полиморфизма гена GSTM1 в лимфоцитах крови у больных мужчин изменяется активность

Г6ФДГ и НАДФМДГ: при GSTM1 0/0 активность Г6ФДГ повышена, а уровень НАДФМДГ снижен.

При исследовании активности НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1 установлено, что активность Г3ФДГ понижена относительно контрольного диапазона при GSTM1+, тогда как у больных с делецией гена активность фермента статистически достоверно повышена (рис. 4.21). Независимо от полиморфизма гена GSTM1 в лимфоцитах крови больных раком легкого повышены уровни активности ЛДГ и НАДФДГ. Только при генотипе GSTM1 0/0 в лимфоцитах крови больных относительно контрольного уровня повышена активность МДГ.

Уровни активности НАДН-зависимой реакции ЛДГ в лимфоцитах крови у больных раком легкого с генотипами GSTM1+ и GSTM1 0/0 повышены относительно контрольного уровня (рис. 4.22). Однако, у больных с делецией гена активность фермента статистически достоверно повышена более выражено, чем у больных с генотипом GSTM1 +. Независимо от полиморфизма гена в лимфоцитах крови больных повышены уровни активности НАДН-зависимой реакции МДГ.

Необходимо отметить, что выявляются особенности в уровнях активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в зависимости от полиморфизма гена GSTM1 и у лиц контрольной группы. Так, обнаружено, что при генотипе GSTM1 0/0 в клетках иммунной системы значительно снижены уровни активности Г3ФДГ и НАДФМДГ, а также повышена активность НАДФДГ.

Следовательно, особенности метаболического статуса лимфоцитов крови у мужчин контрольной группы проявляются в выраженном снижении уровня переноса продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза, понижении активности ключевой реакции липидного анаболизма, но при повышении интенсивности НАДФ-зависимого переноса продуктов реакций аминокислотного обмена на реакции цикла трикарбоновых кислот. В целом при снижении интенсивности липидного обмена в лимфоцитах периферической крови здоровых мужчин создаются условия для снижения интенсивности анаэробных процессов и повышения уровня аэробного дыхания.

Метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с генотипом GSTM1 + характеризуется снижением активности ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла и соответствующим понижением интенсивности реакций макромолекулярного синтеза, зависящих от НАДФН и рибозо-5-фосфата. При этом также понижается активность Г3ФДГ, которая осуществляет перенос продуктов липидного катаболизма на реакции анаэробного окисления глюкозы [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]. При

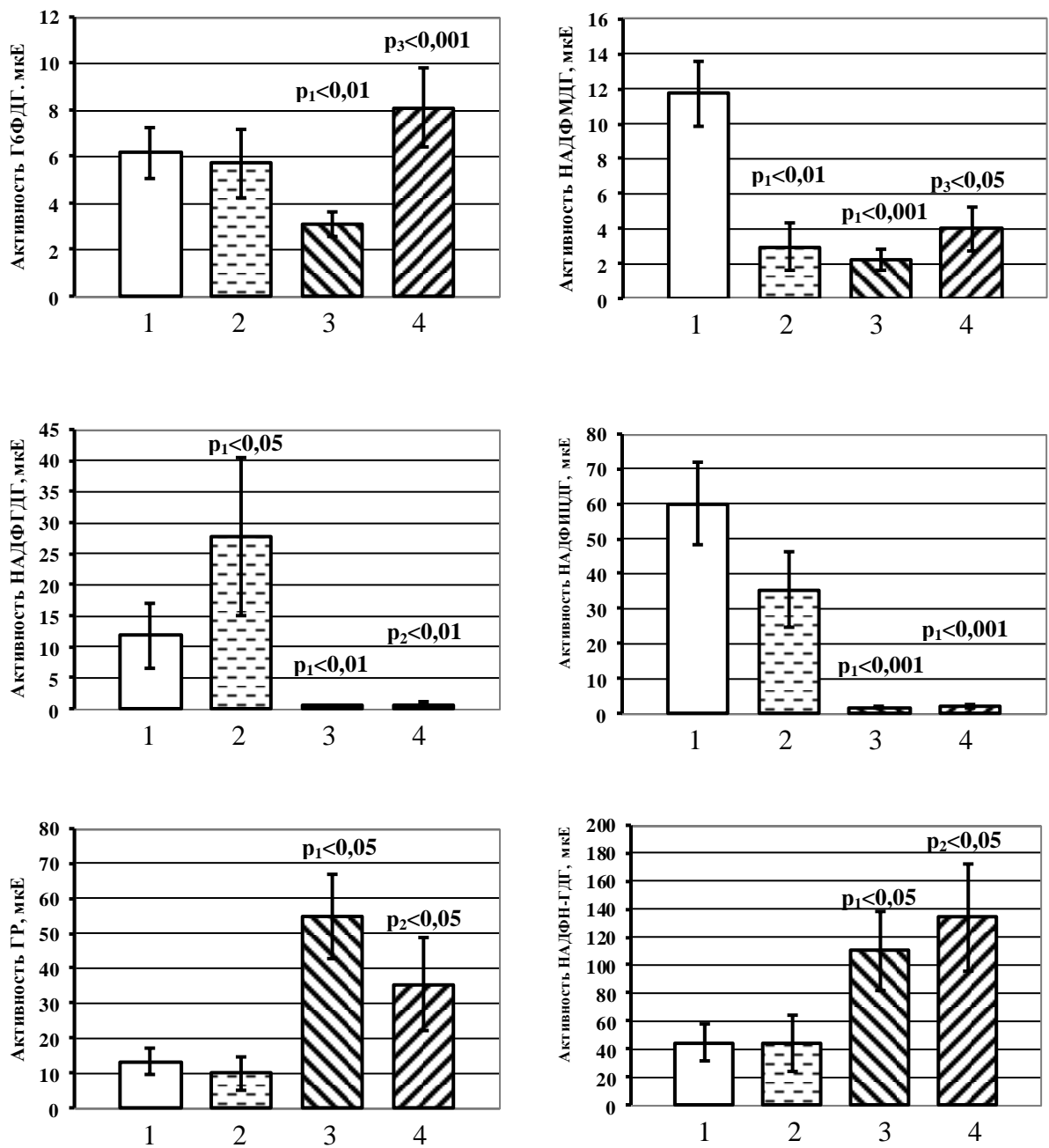


Рис. 4.20. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у лиц контрольной группы и больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.

- 1 – Здоровые мужчины с GSTM1+;
- 2 – Здоровые мужчины с GSTM1 0/0;
- 3 – Больные мужчины с GSTM1+;
- 4 – Больные мужчины с GSTM1 0/0.

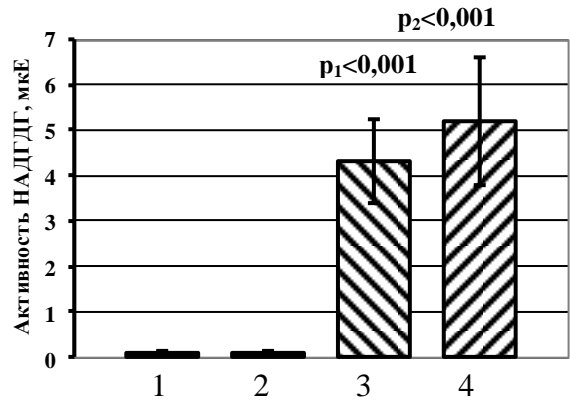
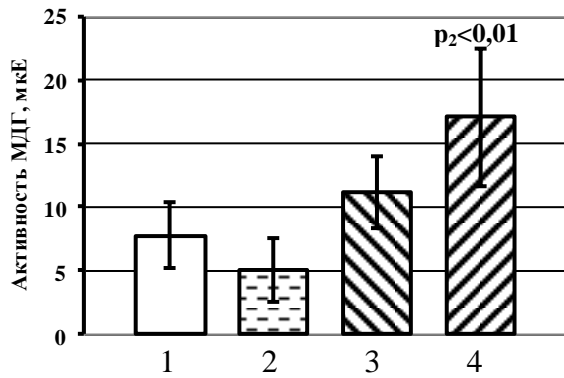
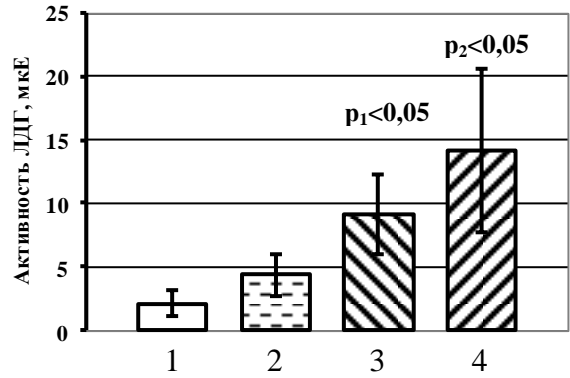
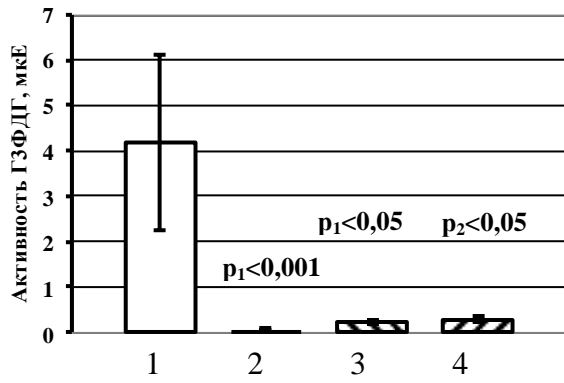


Рис. 4.21. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у лиц контрольной группы и больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.

Усл. обозн. см. на рис. 4.20.

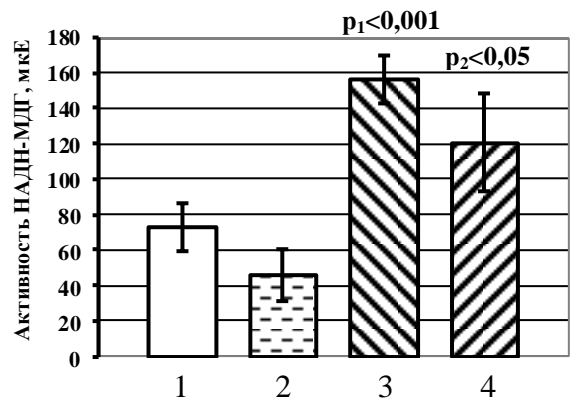
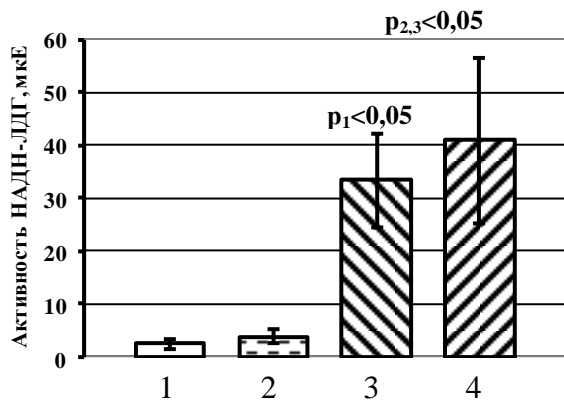


Рис. 4.22. Активность НАДН-зависимых реакций ЛДГ и МДГ в лимфоцитах крови у лиц контрольной группы и больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.

Усл. обозн. см. на рис. 4.20.

выявленных изменениях активности ферментов, осуществляющих как отток, так и приток субстратов с гликолиза, установлено, что интенсивность терминальных реакций анаэробного окисления глюкозы повышена в клетках иммунной системы крови относительно контрольного диапазона.

Независимо от полиморфизма гена GSTM1 в лимфоцитах крови у больных мужчин повышается активность ГР, что позволяет предположить об усилении глутатион-зависимой антиоксидантной защиты. Состояние активности НАД-зависимых дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот в лимфоцитах крови больных с GSTM1+ соответствует контрольному уровню, что позволяет заключить о соответствующей интенсивности аэробного дыхания. Однако ряд оксидоредуктазных реакций, осуществляющих субстратное взаимодействие с циклом Кребса, изменяют свою активность. Так, в лимфоцитах крови больных мужчин выявляется снижение активности НАДФГДГ и НАДФИЦДГ (независимое от полиморфизма гена GSTM1), а также повышение уровня НАДФН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы, осуществляющей отток субстратов с лимонного цикла на реакции аминокислотного обмена [Stanley C.A., 2004; Li M. et al., 2011; McKenna M.C., 2011; Spanaki C., Plaitakis A., 2012]. Кроме того, также независимо от полиморфизма гена GSTM1 повышается активность НАДН-зависимой реакции МДГ, что, с одной стороны, определяется повышенной интенсивностью гликолиза, с другой – характеризует увеличение уровня водородного градиента в митохондриях лимфоцитов крови у больных НМРЛ.

У больных НМРЛ с делецией гена GSTM1 в метаболической системе клеток иммунной системы крови отмечается повышение ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла по сравнению с уровнем, выявленным у больных с GSTM1 +, что позволяет предположить соответствующее увеличение интенсивности реакций макромолекулярного синтеза. При этом активность ГР, которая метаболически связана с уровнем Г6ФДГ, не зависит от полиморфизма гена GSTM1. Уровень притока субстратов на реакции гликолиза через Г3ФДГ у больных данной группы повышен относительно контрольного диапазона и соответствует уровню при GSTM1+. Однако интенсивность терминальных реакций анаэробного окисления глюкозы у больных мужчин с генотипом GSTM1 0/0 повышен, что характеризуется увеличением активности анаэробной реакцией ЛДГ. Только при GSTM1 0/0 у больных НМРЛ повышается активность МДГ, что определяет увеличение интенсивности терминальных реакций цикла трикарбоновых кислот. Причем, повышение активности МДГ у больных с данным генотипом по GSTM1 может также определяться увеличением уровня шунтирующей реакции НАДФМДГ, что также обуславливает высокую интенсивность реакций липидного анаболизма. В то же время, интенсивность субстратного взаимодействия между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена не зависит от полиморфизма гена GSTM1.

В целом особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных с GSTM1 0/0 (в сравнении с метаболическими процессами при GSTM1 +) определяется повышенной активностью ряда реакций макромолекулярного синтеза, терминальных реакций гликолиза и реакций, определяющих интенсивность аэробного дыхания.

В зависимости от полиморфизма гена GSTM1 выявляются различия в корреляционных взаимосвязях между размером опухоли и активностью метаболических ферментов лимфоцитов крови. Обнаружено, что только при GSTM1+ выявляются отрицательные корреляционные связи размера опухоли с уровнями активности ЛДГ ($r = -0,35$, $p = 0,027$), НАДФГДГ ($r = -0,61$, $p < 0,001$) и НАДГДГ ($r = -0,36$, $p = 0,037$). Только при GSTM1 0/0 обнаружена корреляционная взаимосвязь между размером опухоли и активностью НАДФН-ГДГ ($r = -0,60$, $p = 0,002$). В то же время, установлены две взаимосвязи, которые не зависят от полиморфизма гена GSTM1: размер опухоли с уровнями активности НАДФМДГ (при GSTM1+: $r = -0,51$, $p = 0,008$; при GSTM1 0/0: $r = -0,48$, $p = 0,012$) и МДГ (при GSTM1+: $r = -0,51$, $p = 0,008$; при GSTM1 0/0: $r = -0,49$, $p = 0,010$). Обращает внимание, что в данном случае между уровнями активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови и размером опухоли выявляются только отрицательные взаимосвязи. Кроме того, при GSTM1+ размер опухоли коррелирует с ферментами, осуществляющими синтез субстратов для реакций цикла трикарбоновых кислот, в то время как при GSTM1 0/0 – выявляется корреляция с ферментами лимонного цикла, шунтирующей реакций и ферментом, через который осуществляется отток интермедиатов с цикла Кребса.

При исследовании уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1 установлено, что у больных мужчин с делецией гена по сравнению с выявленным при GSTM1+ снижена активность Г6ФДГ, НАДН-ЛДГ и ГР, а также повышен уровень НАДГДГ (рис. 4.23). Анализ полученных данных позволяет отметить следующее. При генотипе GSTM1 0/0 в лимфоцитах региональных лимфоузлов значительно снижается интенсивность пластических процессов, зависящих от активности пентозофосфатного цикла. При этом, понижение активности анаэробной реакции ЛДГ позволяет предположить снижение интенсивности терминальных реакций гликолиза, что может определяться низким уровнем субстратного обеспечения анаэробного окисления глюкозы. С активностью Г6ФДГ метаболически тесно взаимосвязана ГР, уровень активности которой при делеции гена GSTM1 снижен. Известно, что данный фермент не только в значительной степени определяет активность глутатион-зависимой антиоксидантной системы, но и содержится в составе хроматина клеточных ядер, где участвует в системе пролиферативных

процессов [Pallardó F.V. et al., 2009; Diaz Vivancos P. et al., 2010; Laborde E., 2010; Markovic J. et al., 2010].

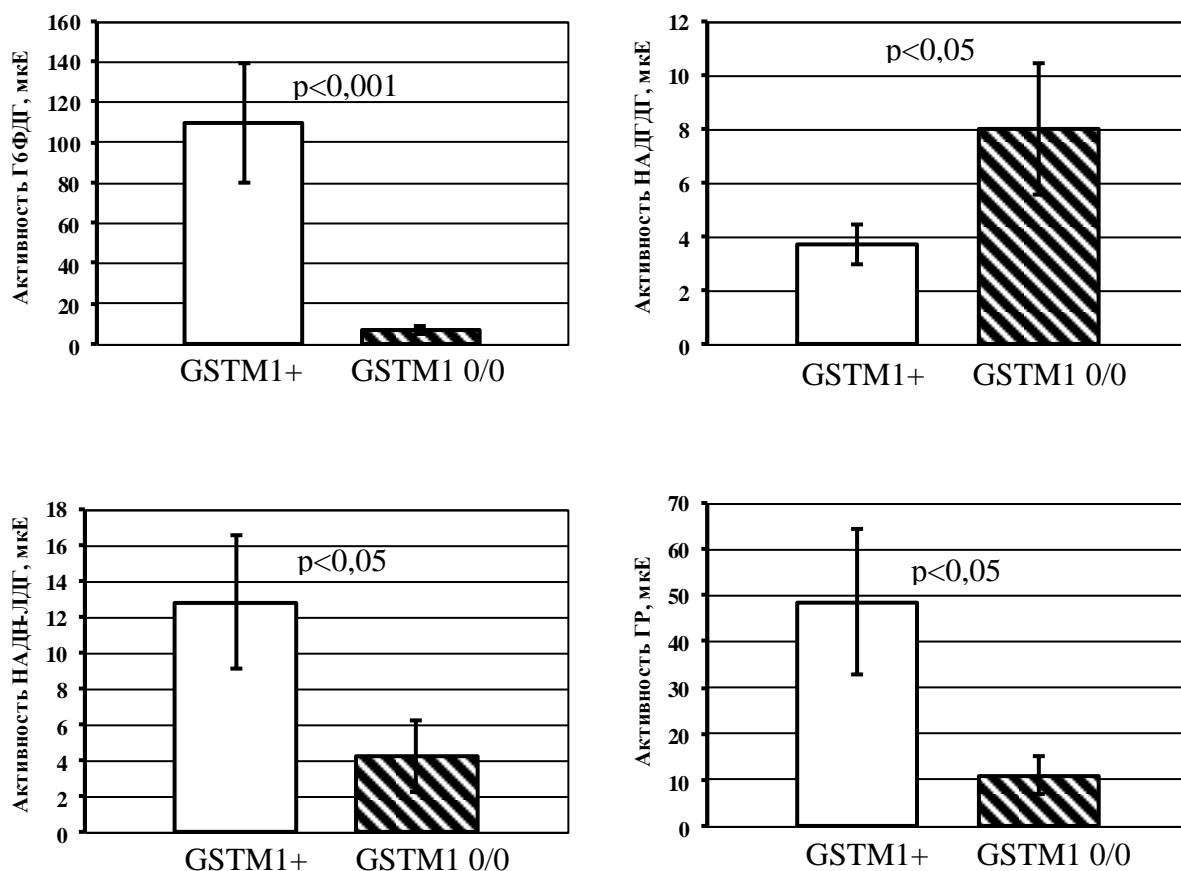


Рис. 4.23. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах лимфоузлов корня легкого у больных НМРЛ в зависимости от полиморфизма гена GSTM1.

Соответственно снижение активности фермента может привести, во-первых, к повышению интенсивности перекисных процессов, а, во-вторых, к снижению пролиферативной способности лимфоцитов лимфоузлов. В то же время, при снижении интенсивности метаболических процессов цитоплазматического компартмента в клетках иммунной системы больных раком легкого при GSTM1 0/0 выявляется повышение активности НАДГДГ, что может стимулировать интенсивность субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот и соответственно повышать уровень аэробного дыхания.

Таким образом, метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с генотипом GSTM1 + характеризуется снижением интенсивности пластических процессов, зависящих от продуктов пентозофосфатного цикла, активности переноса продуктов липидного катаболизма через Г3ФДГ на реакции гликолиза, но при повышении уровня анаэробного окисления глюко-

зы. Особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных с GSTM1 0/0 (в сравнении с метаболическими процессами при GSTM1+) определяется повышенной активностью ряда реакций макромолекулярного синтеза, терминальных реакций гликолиза и реакций, определяющих интенсивность аэробного дыхания. При генотипе GSTM1 0/0 в лимфоцитах региональных лимфоузлов (в сравнении с метаболическими процессами при GSTM1 +) значительно снижается интенсивность пластических процессов, зависящих от активности пентозофосфатного цикла, а также уровень терминальных реакций гликолиза. Выявленная при генотипе GSTM1 0/0 снижение активности ГР может привести к повышению интенсивности перекисных процессов и к снижению пролиферативной способности клеток иммунной системы. Однако при снижении интенсивности метаболических процессов цитоплазматического компартмента в клетках иммунной системы лимфоузлов у больных раком легкого при GSTM1 0/0 генотипе выявляется изменения метаболических показателей, характеризующих стимуляцию интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, что соответственно может повышать уровень аэробного дыхания.

4.2. Метаболизм лимфоцитов при вирусных инфекциях

4.2.1. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных рецидивирующим герпесом

Иммунные реакции, особенно на уровне клеточного иммунитета, играют важную роль в патогенезе герпесвирусной инфекции [Исаков В.А. и др., 2006; Aubert M. et al., 2006; Diaz G.A. et al., 2006; Gorgian Mohammadi M. et al., 2009; Huilan Y. et al., 2010]. Изучение патогенеза заболевания является одним из условий успешной борьбы с инфекцией. Определение особенностей метаболизма лимфоцитов позволяет охарактеризовать их уровень реактивности [Робинсон М.В. и др., 1986; Савченко А.А., Смирнова С.В., 2001; Козлов В.А. и др., 2009; Савченко А.А. и др., 2011; Vyas S., Roberti I., 2011; Zhou H. et al., 2011].

Диагноз герпесвирусной инфекции устанавливался клинически на основании жалоб, анамнестических данных и характерных морфологических элементов высыпаний (локальная эритема, сгруппированные везикулы, эрозии, покрытые сероватым налетом с тенденцией к слиянию). Диагноз подтверждался обнаружением специфических иммуноглобулинов класса М и наличием антигена вируса в мазках-отпечатках с поверхности эрозий.

Обнаружено, что у лиц с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией (РГВИ) в отличие от здоровых обследованных выявляется снижение активности оксидоредуктаз, определяющих интенсивность биоэнергетиче-

ских процессов в лимфоцитах (табл. 4.1). Различия в активности исследуемых ферментов лимфоцитов крови у лиц контрольной группы и больных с РГВИ позволяют оценить физиологическое состояние клеток иммунной системы. Так, снижение уровня Г6ФДГ – ключевого фермента пентозофосфатного цикла – может привести к меньшему образованию НАДФН и рибозо-5-фосфата – важных компонентов для многих синтетических процессов (синтеза РНК, ДНК, липидов и др.) [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др., 2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al.,

Т а б л и ц а 4.1

Активность НАД(Ф) зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови здоровых людей и больных РГВИ ($X \pm m$)

Показатель	Контроль (n = 104)	Больные РГВИ (n = 71)	p
Г6ФДГ	8,43 ± 0,83	0,32 ± 0,05	<0,001
Г3ФДГ	0,97 ± 0,15	0,05 ± 0,01	<0,001
ЛДГ	35,76 ± 3,66	15,98 ± 1,96	<0,001
МДГ	118,63 ± 13,31	20,51 ± 2,41	<0,001
НАДФМДГ	5,04 ± 0,61	22,10 ± 2,21	<0,001
НАДФГДГ	0,82 ± 0,12	0,73 ± 0,15	
НАДГДГ	7,42 ± 1,09	0,60 ± 0,10	<0,001
НАДИЦДГ	11,49 ± 2,55	1,32 ± 0,21	<0,01
НАДФИДГ	42,37 ± 7,16	21,18 ± 3,25	<0,05
НАДН-ЛДГ	166,70 ± 26,17	1,60 ± 0,30	<0,001
НАДН-МДГ	278,89 ± 33,88	6,93 ± 0,94	<0,001
ГР	57,73 ± 9,09	6,13 ± 1,20	<0,001

2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. О низкой интенсивности энергетических процессов в лимфоцитах герпесвирусных больных свидетельствует ингибирование активности Г3ФДГ – фермента, выполняющего двойную роль в клеточном метаболизме: во-первых, он участвует в митохондриальном водородном шунте, во-вторых, осуществляет перенос продуктов катаболизма липидов на гликолиз и глюконеогенез [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]. Снижение потока субстратов по гликолизу, вероятно, приведет к снижению содержания восстановленных пиридиновых нуклеотидов в цитоплазме. При этом ингибирование анаэробной и аэробной реакции ЛДГ, с одной стороны, свидетельствует о снижении возможности окисления цитоплазматического НАДН, что может вести к постоянному ингибированию гликолиза на уровне гексокиназы и фосфофруктокиназы, с другой

– об ослаблении способности лимфоцитов у больных РГВИ метаболизировать эндогенный лактат при аэробном дыхании.

Нарушение обмена веществ в цитоплазме может отражаться на внутримитохондриальных процессах. Так, значительное снижение активности НАДИЦДГ и МДГ (ферментов цикла Кребса), по-видимому, характеризуют более низкий уровень субстратного потока в митохондриальном цикле, который совместно со снижением уровня НАДН-зависимой реакции МДГ (ключевой фермент малатаспартатного шунта) может обусловить функциональную недостаточность митохондрий. О депрессивном состоянии внутримитохондриальных процессов в лимфоцитах больных РГВИ дополнительно свидетельствует ингибирование реакций НАДГДГ и НАДН-ГДГ (окислительного дезаминирования глутамата и восстановительного аминирования α -кетоглутората соответственно).

Снижение активности НАДФИДГ, с одной стороны, наряду со сниженным уровнем НАДФН-ГДГ (реакция восстановительного аминирования 2-оксоглутарата), может обусловить недостаточное поступление субстратов в цикл Кребса, с другой – снижение интенсивности процессов биосинтеза липидов, для реализации которого необходим НАДФН. В частности, у больных герпесвирусной инфекцией наблюдается снижение активности ГР, которая осуществляет НАДФН-зависимое восстановление окисленного глутатиона.

Интересно отметить, что у больных РГВИ наблюдается повышение активности НАДФМДГ на фоне выявленной функциональной недостаточности лимфоцитов, проявляющейся в снижении уровня метаболических процессов. Однако увеличение активности НАДФМДГ не может компенсировать недостаточность пентозофосфатного пути, так как не образуется рибозо-5-фосфат, необходимый для синтеза макромолекулярных веществ. К тому же, известно, что без активации ферментов пентозофосфатного цикла скорость реакции бласттрансформации снижается (Савченко А.А. и др., 2011; Rosa L.F. et al., 1993; De Azevedo R.V. et al., 1996).

Таким образом, изучение активности внутриклеточных ферментов позволило обнаружить снижение активности оксидоредуктаз, в значительной степени определяющих биоэнергетические возможности лимфоцитов. По-видимому, именно подобное состояние метаболизма лимфоцитов и определяет угнетение их функциональной активности. Предположено, что дефицит клеточного иммунитета при рецидивирующем ВПГ связан с некоторыми механизмами, которые на определенном этапе способствуют переходу от вирусносительства к формированию тяжелой патологии. Изучение биохимических показателей, отражающих состояние внутриклеточного обмена веществ, а следовательно, и функциональную активность лимфоцитов крови у больных герпесвирусной инфекцией может определять прогностическое значение в разработке методов реконвалесценции при данной патологии.

Исследованы уровни активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных РГВИ в зависимости от стадии заболевания. Выявленные различия в активности исследуемых ферментов лимфоцитов периферической крови у здоровых людей и лиц с РГВИ в периоды рецидива и ремиссии заболевания позволяют оценить метаболическое состояние лимфоцитов при данной патологии. Обнаружено, что в состоянии ремиссии у лиц с РГВИ снижены уровни ГЗФДГ, МДГ, НАДФГДГ, НАДИЦДГ и увеличена активность анаэробной реакции ЛДГ и ГР (табл. 4.2).

Снижение уровня МДГ и низкая активность НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы у больных в период ремиссии заболевания свидетельствуют о менее эффективной работе малат-аспартатного челночного механизма, играющего важную роль в глюконеогенезе, а особенно в переносе оксалоацетата через митохондриальную мембрану. По-видимому, нарушение транспорта оксалоацетата может повлечь за собой сбой в обмене аминокислот, так как данный интермедиат относится к одной из трех важных кетокислот (пируват, 2-оксоглутарат и оксалоацетат), служащих акцептором NH_2 -групп в реакциях переаминирования аминокислот. Кроме того, снижение активности МДГ, приводящее к образованию меньшего количества оксалоацетата в митохондриях, вероятно, может ограничивать количество субстрата, поступающего в цикл Кребса, тем самым, снижая уровень интенсивности энергетического цикла.

Об эффективности работы цикла трикарбоновых кислот можно также судить по изменению уровней активности НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ, НАДФГДГ и НАДГДГ. У лиц с РГВИ в период ремиссии заболевания наблюдается снижение уровня НАДИЦДГ, а активность НАДФИЦДГ практически не отличается от таковой у больных при рецидиве патологического процесса.

Еще один путь поступления субстратов в цикл Кребса – поступление 2-оксоглутарата, образующегося в результате расщепления ряда аминокислот: аргинина, гистидина, пролина, глутамина (при их окислении образуется глутамат) и глутамата. Глутамат под действием НАДГДГ превращается в 2-оксоглутарат. Этот фермент присутствует только в матриксе митохондрий и отвечает за большую часть аммиака, образующегося в животных тканях, так как глутамат – единственная аминокислота, способная таким путем с большей скоростью отщеплять свою α -аминогруппу, то очевидна ее особая роль в обмене аминокислот. Обнаружено, что уровень НАДГДГ в ремиссии заболевания практически не отличается от такового у лиц с РГВИ при рецидиве.

Один из путей обезвреживания аммиака – восстановительное аминирование, катализируемое НАДФГДГ с образованием глутамата. Наличие различных кофакторов, используемых глутаматдегидрогеназой (НАД и

Т а б л и ц а 4.2

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови больных РГВИ в периоды рецидива и ремиссии заболевания ($X \pm m$)

Показатель	Контроль (n = 104)	Больные РГВИ	
		Рецидив (n = 71)	Ремиссия (n = 16)
Г6ФДГ	8,43 ± 0,83	0,32 ± 0,05 $p_1 < 0,001$	0,35 ± 0,08 $p_1 < 0,001$
Г3ФДГ	0,97 ± 0,15	0,05 ± 0,01 $p_1 < 0,001$	0,005 ± 0,002 $p_{1,2} < 0,05$
ЛДГ	35,76 ± 3,66	15,98 ± 1,96 $p_1 < 0,001$	12,84 ± 4,32 $p_{1,2} < 0,01$
МДГ	118,63 ± 13,31	20,51 ± 2,41 $p_1 < 0,001$	5,83 ± 1,43 $p_{1,2} < 0,01$
НАДФМДГ	5,04 ± 0,61	22,10 ± 2,21 $p_1 < 0,001$	5,69 ± 1,69 $p_1 < 0,001$
НАДФГДГ	0,82 ± 0,12	0,73 ± 0,15	0,03 ± 0,01 $p_{1,2} < 0,05$
НАДГДГ	7,42 ± 1,09	0,60 ± 0,10 $p_1 < 0,001$	0,38 ± 0,13 $p_1 < 0,05$
НАДИЦДГ	11,49 ± 2,55	1,32 ± 0,21 $p_1 < 0,01$	0,59 ± 0,21 $p_{1,2} < 0,05$
НАДФИЦДГ	42,37 ± 7,16	21,18 ± 3,25 $p_1 < 0,05$	13,07 ± 3,82 $p_1 < 0,05$
НАДН-ЛДГ	166,70 ± 26,17	1,60 ± 0,30 $p_1 < 0,001$	5,43 ± 2,15 $p_{1,2} < 0,01$
НАДН-МДГ	278,89 ± 33,88	6,93 ± 0,94 $P_1 < 0,001$	8,93 ± 3,65 $p_1 < 0,01$
ГР	57,73 ± 9,09	6,13 ± 1,20 $p_1 < 0,001$	23,06 ± 10,58 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$

Примечание: p_1 – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; p_2 – -//- с показателями больных с рецидивом РГВИ.

НАДФ) для отщепления и присоединения аммиака, обеспечивает независимую регуляцию дезаминирования глутамата и аминирования 2-оксоглутарата. Хотя вклад восстановительного аминирования в обезвреживание аммиака незначителен (для фермента требуется высокая концентрация 2-оксоглутарат), снижение уровня НАДФГДГ в лимфоцитах у лиц с

рецидивом РГВИ свидетельствует о значительном снижении данного механизма связывания аммиака.

Следовательно, снижение уровней НАДИЦДГ, НАДФГДГ и низкая активность НАДГДГ и НАДИЦДГ в лимфоцитах больных в ремиссии РГВИ наряду со снижением скорости потока субстратов по циклу трикарбоновых кислот прослеживается угнетение дыхательных процессов в клетках, наблюдается характерное снижение как биосинтетических процессов, так и процессов обезвреживания аммиака.

Анализ полученных данных показал, что у лиц с РГВИ при ремиссии заболевания в лимфоцитах периферической крови снижается интенсивность гликолиза, скорость цикла Кребса, дезактивируются глицеролфосфатный и малатаспартатный челночные механизмы и, как следствие этого, угнетается клеточное дыхание. Отмечено также, что в этот период заболевания характерна низкая реакция бласттрансформации лимфоцитов. Предполагается, что подобное метаболическое состояние лимфоцитов определяет выраженное снижение их функциональной активности. Вместе с тем среди уровней некоторых (преимущественно цитозольных) ферментов, таких как НАДФМДГ и ГР лимфоцитов крови лиц при ремиссии РГВИ, наблюдается тенденция приближения к диапазону здоровых лиц.

По-видимому, результаты, регистрируемые в ходе данного исследования, характеризуют определенную стадию промежуточного процесса на пути к восстановлению реактивности лимфоцитов периферической крови. Кроме того, по ингибированию маркерных митохондриальных энзимов, таких как МДГ и НАДФГДГ, можно судить не только об ухудшении работы митохондриальной системы трансформации, но и о пониженной аккумуляции энергии в макроэргических связях АТФ.

Таким образом, в «микрופатогенезе» герпетической инфекции на клеточном уровне важное место занимает патологическое действие, которое оказывает весь процесс вирусной репродукции на клеточные мембраны, в том числе цитоплазматические и митохондриальные; при этом меняется их проницаемость, а вследствие этого – и транспорт веществ, регулирующих определенные звенья метаболизма. Особо важную роль играют митохондрии и их мембраны. Поскольку митохондрии обладают собственной ДНК и зависимой от нее системой синтеза РНК, они имеют все необходимое для автономного биосинтеза белка. Вполне естественно, что этот биосинтез в нормальных условиях полностью согласованный с функцией клеточного генома, при систематическом нарушении функции митохондриальных мембран резко меняется и может служить источником патологических продуктов, репрессирующих или депрессирующих функциональную активность клеточной ДНК. Об этом свидетельствует низкая активность Г6ФДГ у лиц с РГВИ.

4.2.2. Состояние уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных острым вирусным гепатитом В при разной степени вирусной нагрузки

Доказано, что прогрессирование острого вирусного гепатита В (ОВГВ) зависит от продолжающейся репликации вируса в печени и состояния иммунной системы больного [Chen X. et al., 2008; Gujar S.A. et al., 2008; Schurich A. et al., 2011; Gu X.B. et al., 2012; Purvina M. et al., 2012]. Вирус не оказывает прямого цитопатического действия, лизис инфицированных гепатоцитов определяется иммунным ответом хозяина [Mansour-Ghanaei F. et al., 2012; Murata M. et al., 2012; Xia Y.J. et al., 2012; Yang W.B. et al., 2012]. Недостаточность лизиса инфицированных вирусом гепатоцитов объясняется различными механизмами, она может быть связана с усиленной супрессорной Т-клеточной функцией, дефектом цитотоксических лимфоцитов, увеличенным уровнем апоптоза специфических Т-лимфоцитов, наличием блокирующих антител на клеточной мембране, а также недостатком синтеза цитокинов. При этом только на основе знания механизмов, приводящих к различным изменениям иммунореактивности, возможно совершенствование диагностики и разработка адекватных методов терапии. Одним из перспективных направлений, позволяющих охарактеризовать патогенез нарушения реактивности иммунной системы при инфекционном процессе, является изучение метаболизма клеток иммунной системы. На сегодняшний день установлено, что функциональные проявления лимфоцитов, например такие, как дифференцировка, пролиферация, синтез рецепторов и цитокинов, осуществляются только при соответствующем изменении их метаболизма [Робинсон М.В. и др., 1986; Савченко А.А., Смирнова С.В., 2001; Козлов В.А. и др., 2009; Савченко А.А. и др., 2011; Vyas S., Roberti I., 2011; Zhou H. et al., 2011]. Можно предположить, что изменения в системе внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при ОВГВ будут зависеть от степени вирусной нагрузки.

Диагноз ОВГВ устанавливался при помощи стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением с помощью иммуноферментных методов специфических маркеров – НВsAg, НВеAg, специфических иммуноглобулинов G и M к НВсAg, общих антител к НВеAg и вирусной ДНК. Из обследования исключались лица, инфицированные другими вирусами гепатитов и вирусом иммунодефицита человека. ДНК вируса гепатита В (ВГВ) выявляли методом полимеразной цепной реакции с использованием флуоресцентно-меченых гибридационных зондов (“ДНК-технология”, Москва).

При обследовании больных ОВГВ установлено, что содержание ДНК ВГВ в сыворотке крови характеризуется следующими статистическими характеристиками: $Me = 3,40 \times 10^4$ копий ДНК/мл, $C_{25} = 1,90 \times 10^3$ копий ДНК/мл, $C_{75} = 5,25 \times 10^5$ копий ДНК/мл, минимальное содержание = 0 ко-

пий ДНК/мл, максимальное = $1,44 \times 10^{10}$ копий ДНК/мл. Обнаружено, что уровень содержания вирусной ДНК в сыворотке крови взаимосвязан с активностью НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови. Выявлена отрицательная взаимосвязь с активностью НАДИЦДГ ($r = -0,28$, $p = 0,042$) и положительные корреляционные связи с уровнями ГР ($r = 0,39$, $p = 0,008$), НАДН-ГДГ ($r = 0,33$, $p = 0,033$) и НАДФН-ГДГ ($r = 0,32$, $p = 0,029$). Активность НАДИЦДГ характеризует интенсивность субстратного потока на начальных этапах цикла трикарбоновых кислот, в значительной степени определяющего уровень аэробной энергетики. Следовательно, с увеличением количества ДНК в сыворотке крови больных ОВГВ может снижаться интенсивность аэробного дыхания. Возможно, что положительные взаимосвязи между количеством ДНК ВГВ и уровнями активности НАДН-ГДГ и НАДФН-ГДГ и определяют компенсаторные реакции внутриклеточного метаболизма, стимулируя субстратный поток по циклу Кребса продуктами аминокислотного обмена [Stanley С.А., 2004; Li М. et al., 2011; McKenna М.С., 2011; Spanaki С., Plaitakis А., 2012]. ГР – фермент глутатион-зависимой антиоксидантной системы [Сафонова О.А. и др., 2011; Ефременко Е.С. и др., 2012; Waggiallah Н., Alzohairy М., 2011; Djukic М.М. et al., 2012; Niedźwiedz A. et al., 2012; Yan J. et al., 2012]. В связи с наличием положительной взаимосвязи, можно предположить, что с увеличением количества вирусной ДНК в сыворотке у больных ОВГВ повышается уровень перекисных процессов.

Исходя из распределения количества ДНК ВГВ, мы разделили всех больных ОВГВ на три подгруппы: с низкой степенью вирусной нагрузки (ниже уровня, соответствующего величине C_{25}), со средней степенью вирусной нагрузки (лица с интерквартильным размахом ДНК ОВГВ: $C_{25} - C_{75}$) и с высокой степенью вирусной нагрузки (выше уровня, соответствующего значению C_{75}). Показатели количества ДНК ВГВ в сыворотке крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки представлены в табл. 4.3.

При исследовании уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки установлено, что при низком содержании ДНК ВГВ в клетках понижается активность МДГ, НАДН-ЛДГ, НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ (рис. 4.24 и 4.25). При средней степени вирусной нагрузки у больных ОВГВ в лимфоцитах крови относительно контрольного уровня понижается активность ЛДГ, НАДФИЦДГ, МДГ, НАДИЦДГ, НАДН-ЛДГ, НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ. Обнаружено, что у больных данной подгруппы относительно контрольного диапазона повышается активность НАДГДГ. Как относительно контрольного диапазона, так и уровня, выявленного при низкой вирусной нагрузки, повышается активность НАДФН-ГДГ. Только

Т а б л и ц а 4.3

Количество молекул ДНК ВГВ в сыворотке крови больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы больных ОВГВ		ДНК ВГВ, копий ДНК/мл	p
1. Низкая степень вирусной нагрузки (n=19)	Me	$0,00 \times 10^0$	
	C ₂₅ -C ₇₅	$0,00 \times 10^0 - 1,00 \times 10^3$	
2. Средняя степень вирусной нагрузки (n=38)	Me	$3,40 \times 10^4$	p ₁ <0,001
	C ₂₅ -C ₇₅	$7,00 \times 10^3 - 2,30 \times 10^5$	
3. Высокая степень вирусной нагрузки (n=19)	Me	$4,50 \times 10^7$	p _{1,2} <0,001
	C ₂₅ -C ₇₅	$5,80 \times 10^6 - 3,50 \times 10^9$	

Примечание: p₁ – статистически достоверные различия с группой больных ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузки; p₂ – статистически достоверные различия с группой больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки.

относительно активности, выявленной при низкой вирусной нагрузке, у больных со средней степенью вирусной нагрузки увеличивается активность ГР (см. рис. 4.25). У больных с высокой степенью вирусной нагрузки снижается активность НАДН-ЛДГ. Только относительно уровня, выявленного при низкой вирусной нагрузке, у больных с высокой степенью вирусной нагрузки повышается активность НАДН-ГДГ и ГР. Как относительно контрольного диапазона, так и уровня, выявленного при низком содержании ДНК ВГВ, у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки повышается активность НАДФН-ГДГ.

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях клетки. Так, снижение активности анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой реакции МДГ в лимфоцитах крови больных ОВГВ с низким содержанием ДНК ВГВ в сыворотке крови может осуществляться за счет низкой активности анаэробного окисления глюкозы и соответственно пониженного уровня наработки НАДН в гликолизе. Пониженная наработка пирувата в гликолизе может привести к снижению интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, что выявляется через резко сниженную активность МДГ. В то же время, пониженная активность НАДН-ГДГ – фермента, который осуществляет НАД-зависимый перенос субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена, определяет наличие компенсаторных процессов, направленных на поддержание уровня интенсивности аэробной энергетики.

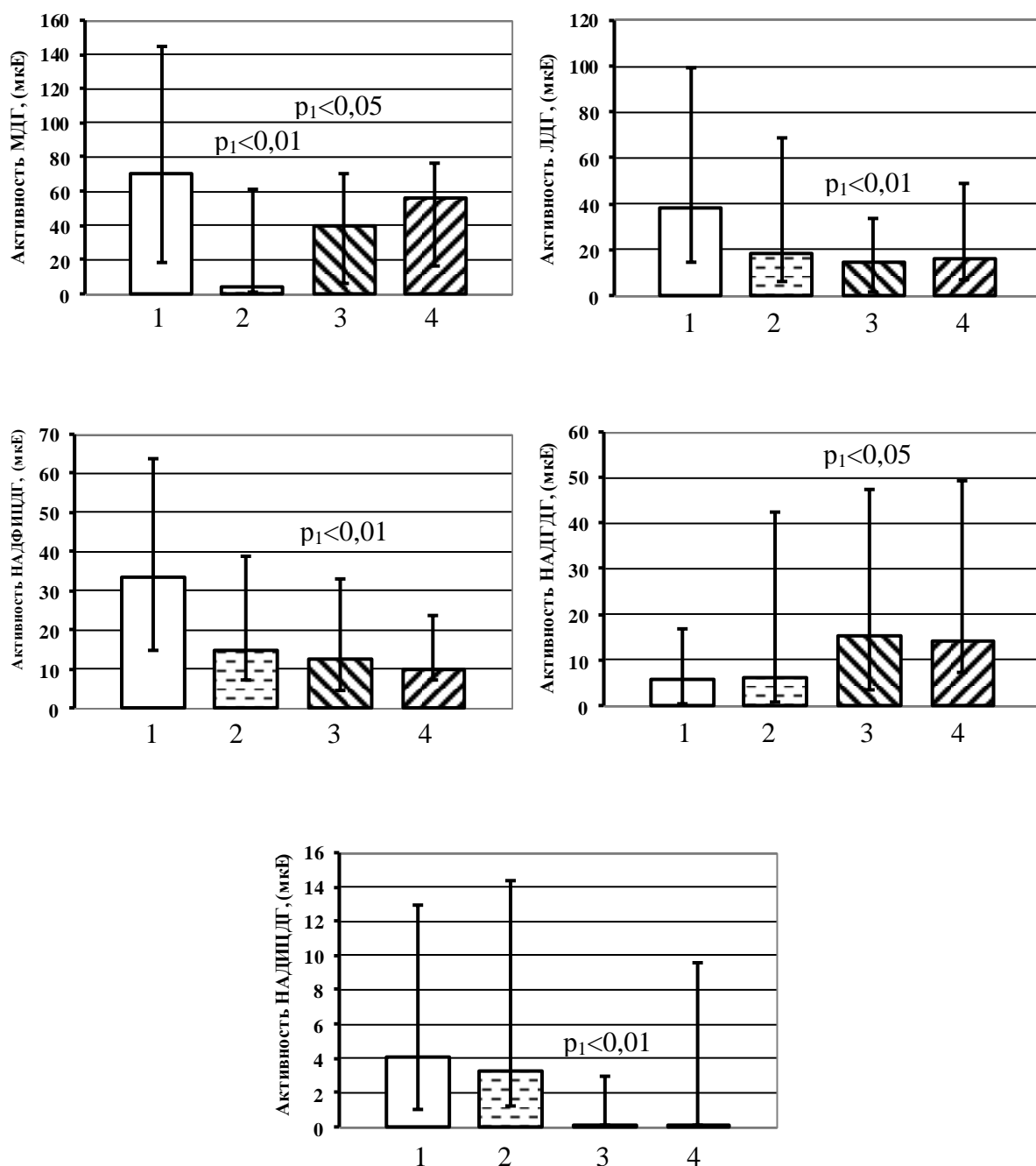


Рис. 4.24. Особенности уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки.

1 – лица контрольной группы; 2 – больные ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузки; 3 – больные ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки; 4 – больные ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки.

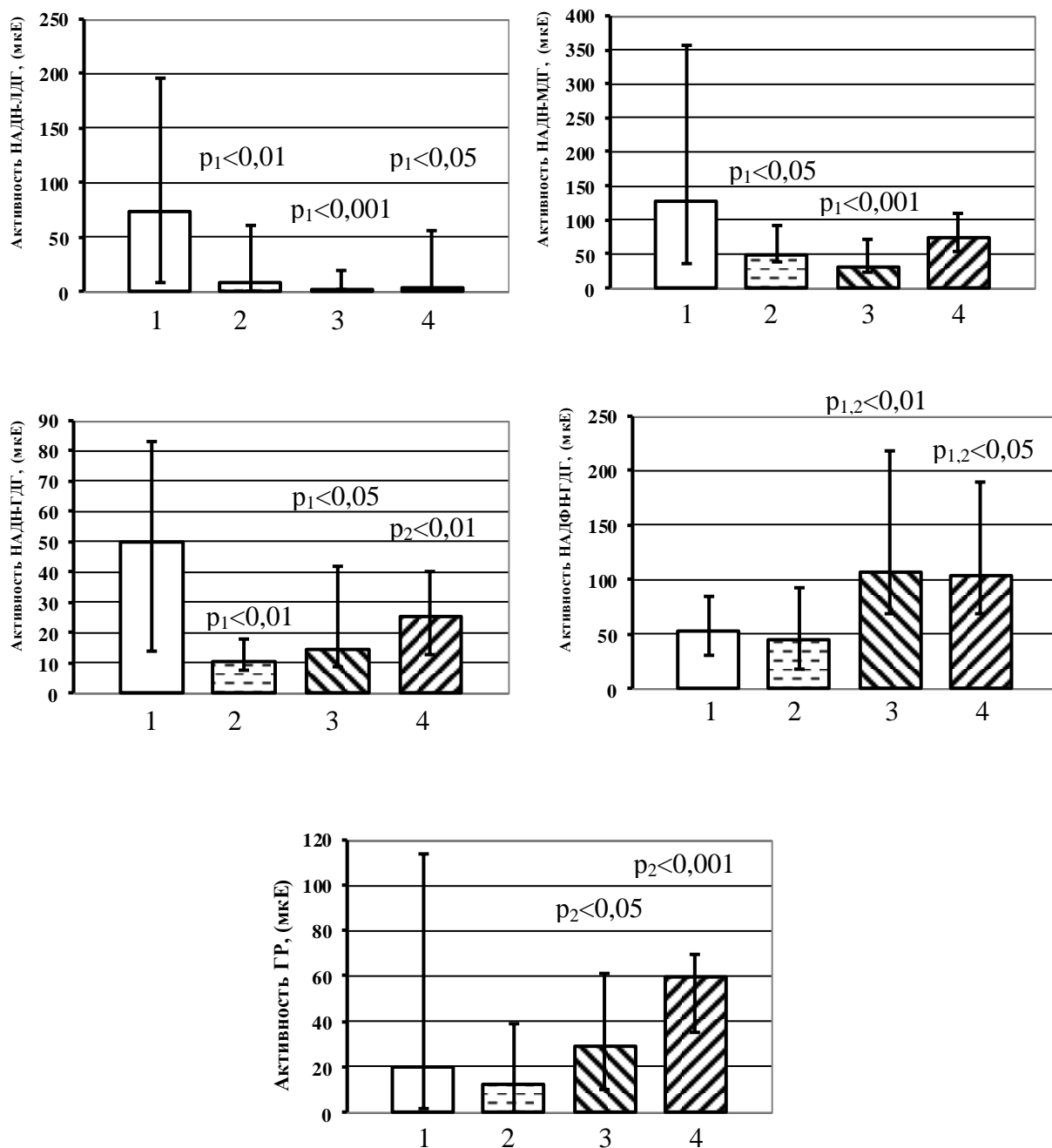


Рис. 4.25. Особенность уровней активности НАДН- и НАДФН-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки.

Усл. обозн. см. на рис. 4.24.

Значительно более выраженные изменения в системе внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови выявляются у больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки. У больных данной подгруппы со-

храняется сниженный уровень активности анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой реакции МДГ. Однако сниженная наработка пирувата в гликолизе также сопровождается понижением активности аэробной реакции ЛДГ, что может значительно ингибировать субстратный поток по лимонному циклу. Действительно, у больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки сниженные уровни активности НАДИЦДГ и МДГ характеризуют функциональную недостаточность цикла Кребса. Причем, пониженный уровень НАДФИЦДГ – вспомогательной дегидрогеназной реакции, также характеризует субстратную недостаточность цикла трикарбонных кислот. При этом в системе внутриклеточного метаболизма лимфоцитов у больных со средней степенью вирусной нагрузки выявляются компенсаторные реакции, направленные на поддержание метаболических процессов, определяющих уровень аэробного дыхания. Так, повышение активности НАДГДГ и снижение уровня НАДН-ГДГ определяет соответственно увеличение притока субстратов и понижение уровня оттока на реакции аминокислотного обмена.

При высокой степени вирусной нагрузки в лимфоцитах крови у больных ОВГВ выявляются минимальные изменения со стороны внутриклеточного метаболизма. Также как и при низком и среднем содержании ДНК ВГВ в сыворотке крови у больных с высокой степенью вирусной нагрузки обнаружено понижение активности анаэробной реакции ЛДГ. Однако изменений активности исследуемых дегидрогеназ цикла трикарбонных кислот не установлено, что позволяет предположить соответствующий контрольному диапазону уровень аэробных дыхания. При этом усиливается НАДН- и НАДФН-зависимый отток субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена.

Необходимо отметить, что у больных со средней и высокой степенью вирусной нагрузки в лимфоцитах крови повышена активность ГР относительно уровня, выявленного у больных с низким содержанием вирусной ДНК в сыворотке крови, что отражает более высокий уровень протекания перекисных процессов. Кроме того, только у лиц данных подгрупп в лимфоцитах крови повышена активность НАДФН-ГДГ, что характеризует активацию НАДФН-зависимого оттока субстратов в цикла трикарбонных кислот на реакции аминокислотного обмена.

Только у больных ОВГВ со средней и высокой степенью вирусной нагрузки выявляется взаимосвязь активности исследуемых оксидоредуктаз лимфоцитов с уровнем содержания вирусной ДНК в сыворотке крови. У больных со средней степенью вирусной нагрузки содержание вирусной ДНК отрицательно взаимосвязана с уровнем активности НАДИЦДГ в лимфоцитах крови ($r = -0,38$, $p = 0,029$). Необходимо отметить, что данная взаимосвязь выявлена на полной группе больных ОВГВ. У больных с высокой степенью вирусной нагрузки уровень сывороточного содержания ДНК ВГВ также отрицательно взаимосвязан с активностью НАДФМДГ (r

= -0,64, $p = 0,011$). Известно, что НАДФМДГ является ключевым ферментом липидного анаболизма [Kuo C.C. et al., 2008; Xu J. et al., 2008; Fu Z.Y. et al., 2009; Hsieh J.Y. et al., 2009]. Следовательно, у больных с высокой степенью вирусной нагрузки при повышении уровня содержания вирусной ДНК в сыворотке крови в лимфоцитах снижается интенсивность анаболизма липидов.

Таким образом, исследована зависимость уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки. Установлено, что уже при низком уровне содержания вирусной ДНК в сыворотке крови в лимфоцитах крови снижается интенсивность метаболических реакций, определяющих активность анаэробных и аэробных процессов. При средней степени вирусной нагрузки выявляется наиболее выраженное изменение метаболических реакций, определяющих недостаточность энергетических процессов, при высокой обнаружен наименьший уровень изменения активности исследуемых дегидрогеназ в лимфоцитах крови. У больных данной группы установлено снижение интенсивности анаэробного окисления глюкозы и повышение оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена при относительном увеличении активности ГР. Только при средней и высокой степени вирусной нагрузки выявляется наличие корреляционных взаимосвязей между уровнем содержания вирусной ДНК в сыворотке крови и активностью некоторых из исследуемых оксидоредуктаз лимфоцитов, что отражает увеличение степени недостаточности энергетических и анаболических реакций при высоком уровне содержания ДНК ВГВ.

4.3. Метаболизм лимфоцитов при бактериальных инфекциях

4.3.1. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов в зависимости от степени тяжести распространенного гнойного перитонита

Лечение распространенного гнойного перитонита (РГП) и в настоящее время остается одной из самых актуальных проблем неотложной хирургии. Это связано с большим количеством больных с РГП, высокой частотой послеоперационных осложнений и летальностью, достигающей 50 % и более при развитии полиорганной недостаточности (ПОН) и септического шока [Винник Ю.С., Здзитовецкий Д.Э., 2011; Здзитовецкий Д.Э. и др., 2012; Суковатых Б.С. и др., 2012]. Большое значение при планировании комплекса лечебных мероприятий у больных РГП имеет прогноз течения и исхода заболевания. Во многом он зависит от характера происходящих изменений в системе иммунитета [Косинец В.А., 2012; Савченко А.А. и др., 2012; Kiank C. et al., 2007; Griveas I. et al., 2009; Takano T. et al.,

2009]. Тяжелая дисфункция иммунной системы у пациентов с РГП является не просто ранним и надежным признаком развивающейся ПОН, а во многом обеспечивает ее возникновение и последующее прогрессирование. Учитывая высокую информативность метаболических показателей для характеристики функционального состояния клеток иммунной системы, исследование метаболических параметров позволяет улучшить диагностику иммунных нарушений, оценить прогноз течения заболевания и правильно выбрать хирургическую тактику и объем интенсивной терапии.

Под нашим наблюдением находились 50 больных с РГП (22 мужчин и 28 женщин) внебольничного и госпитального происхождения, проходивших лечение в отделении гнойной хирургии и отделении реанимации и интенсивной терапии МУЗ «ГБСМП им. Н.С. Карповича» г. Красноярск. Средний возраст больных составил $54,2 \pm 19,2$ года. Из исследования были исключены больные, у которых РГП был осложнением панкреонекроза, неоперабельных онкологических заболеваний органов брюшной области и неоперабельного нарушения мезентериального кровообращения. Исходную степень тяжести больных определяли по шкале SAPSII [Le Gall J.-R. et al., 1993]. Тяжесть РГП исходно определяли по Мангеймскому индексу перитонита (МИП) и индексу брюшной полости (ИБП) [Linder M.M. et al., 1987]. Наличие и степень выраженности ПОН исходно и в динамике определяли по шкале SOFA [Vincent J.L. et al., 1996]. При оценке тяжести синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) мы придерживались критериев ACCP/SCCM [Bone R.S. et al., 1992].

При исследовании уровней активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных РГП обнаружено, что только при средней степени тяжести статистически достоверно снижается активность Г6ФДГ. Активность НАДФГДГ в лимфоцитах больных снижена относительно контрольных показателей независимо от степени тяжести, но при тяжелой степени РГП более выражено, в том числе и относительно уровней, выявленных при средней степени тяжести заболевания (рис. 4.26). Независимо от степени тяжести заболевания в лимфоцитах больных РГП относительно контрольных значений понижена активность НАДФМДГ, НАДФИЦДГ, ГР и НАДФН-ГДГ (рис. 4.26).

Активность ЛДГ в лимфоцитах крови снижена относительно контрольного уровня только у больных со средней степенью тяжести РГП, ГЗФДГ – повышена у больных обеих групп, МДГ и НАДГДГ – понижена независимо от тяжести заболевания (рис. 4.27). Уровни активности НАДН-зависимых реакций ЛДГ, МДГ и НАДГДГ также снижены в лимфоцитах крови больных РГП независимо от тяжести заболевания (рис. 4.28).

С помощью корреляционного анализа обнаружено, что единственная взаимосвязь между уровнями активности внутриклеточных ферментов и клиническими показателями тяжести выявляется только у больных с тяже-

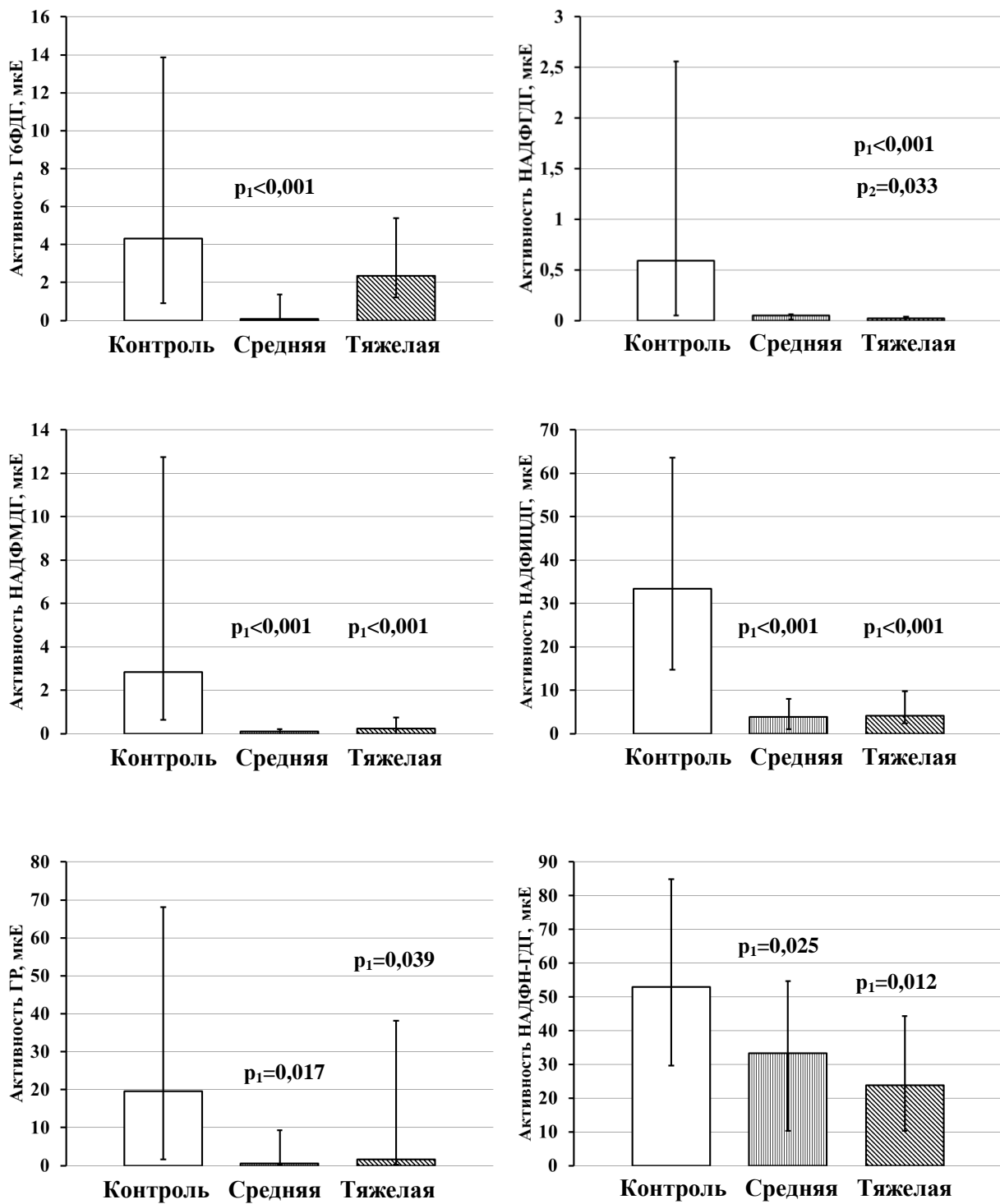


Рис. 4.26. Уровни активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных РГП в зависимости от степени тяжести заболевания.

p_1 – статистически достоверные различия с контрольными значениями; p_2 – -//- с показателями больных со средней степенью тяжести.

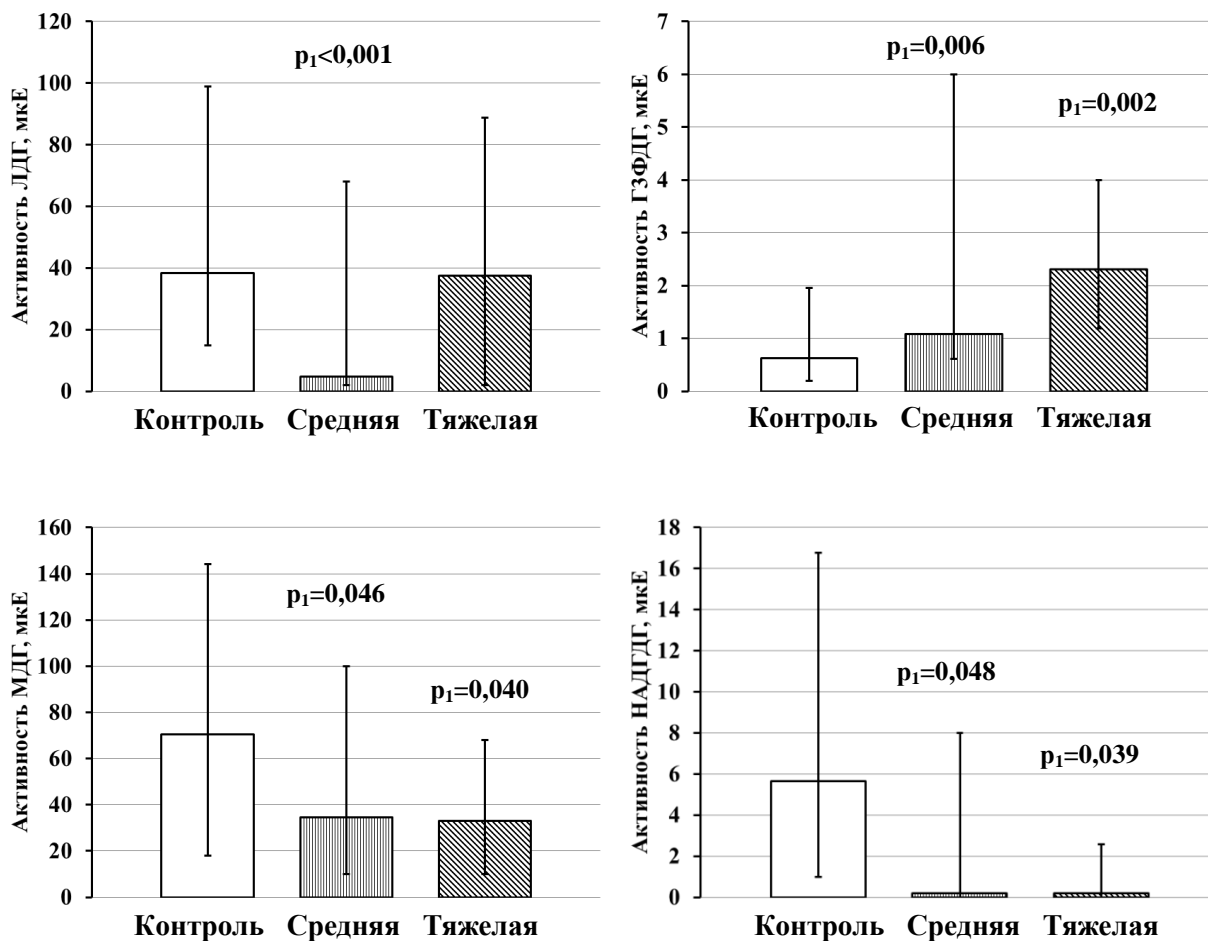


Рис. 4.27. Уровни активности НАД-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных РГП в зависимости от степени тяжести заболевания.

Усл. обозн. см. на рис. 4.26.

лой степень тяжести РГП: активность НАДН-ГДГ с МИП ($r = 0,63$, $p = 0,028$).

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях клетки, характеризуя основные обменные процессы и, тем самым, определяя функциональные возможности клеток. Так, независимое от степени тяжести РГП снижение активности НАДН-зависимой реакции ЛДГ характеризует ингибирование субстратного потока на терминальной стадии анаэробного гликолиза и в целом определяет недостаточность анаэробного дыхания лимфоцитов крови у больных РГП. При этом повышение активности ГЗФДГ – фермента, который, характеризует интенсивность липидного катаболизма и осуществляет перенос его продуктов на

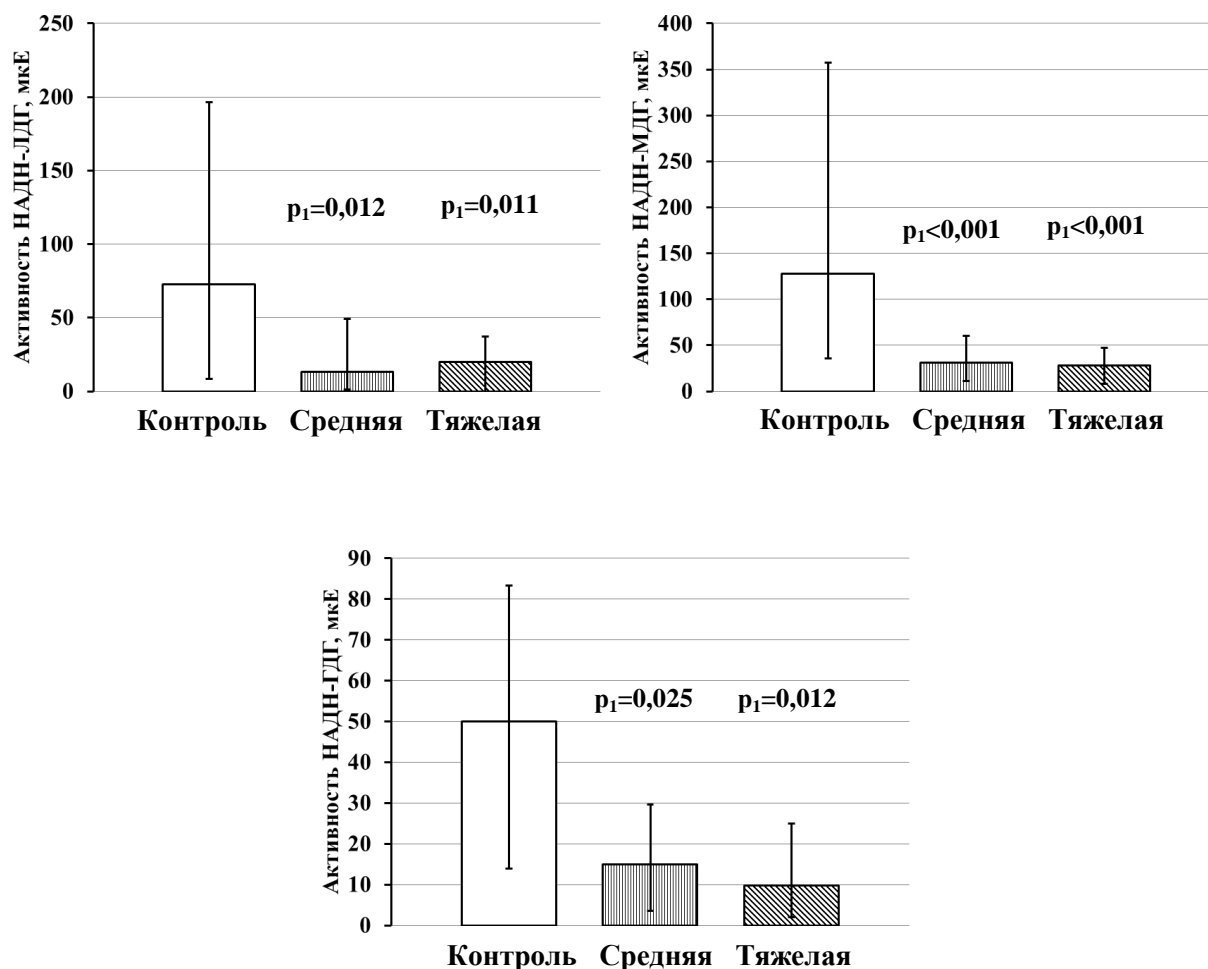


Рис. 4.28. Уровни активности НАДН-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных РГП в зависимости от степени тяжести заболевания.

Усл. обозн. см. на рис. 4.26.

окислительно-восстановительные реакции гликолиза – не компенсирует низкий уровень субстратного потока по анаэробному гликолизу.

Малик-фермент (НАДФМДГ) – ключевой в системе липидного анаболизма – через восстановление НАДФ⁺ принимает участие в реакциях катаболизма ксенобиотиков и осуществляет шунтирование медленных реакций цикла трикарбоновых кислот [Kuo C.C. et al., 2008; Xu J. et al., 2008; Fu Z.Y. et al., 2009; Hsieh J.Y. et al., 2009]. Снижение активности данного фермента в лимфоцитах больных РГП характеризует недостаточность данных процессов. Кроме того, недостаточность реакций восстановления НАДФ⁺ в цитоплазматическом компартменте лимфоцитов также влияет на активность ГР, которая у больных РГП снижена. Фермент осуществляет восстановление глутатиона за счет окисления НАДФН, что определяет его функциональную важность в реакциях глутатион-зависимой антиоксидантной си-

стемы [Сафонова О.А. и др., 2011; Ефременко Е.С. и др., 2012; Waggiallah H., Alzohairy M., 2011; Djukic M.M. et al., 2012; Niedźwiedz A. et al., 2012; Yan J. et al., 2012].

Характерной особенностью метаболизма лимфоцитов у больных со средней степенью тяжести РГП является снижение активности Г6ФДГ – ключевого и инициализирующего фермента пентозофосфатного цикла [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др., 2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al., 2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. Продукты пентозофосфатного цикла используются в широком спектре реакций макромолекулярного синтеза (синтез РНК и ДНК, коферментный обмен, синтез углеводной составляющей гликопротеидов и гликолипидов и т.д.). Кроме того, НАДФН, синтезируемый в реакциях окислительно-восстановительной стадии пентозофосфатного цикла, также используется при восстановлении окисленного глутатиона [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ninfali P. et al., 1996; Bülbül M., Erat M., 2008; Tandogan B. et al., 2011]. Другая характерная особенность метаболизма лимфоцитов у больных со средней степенью тяжести РГП – низкая активность аэробной реакции ЛДГ, осуществляющей субстратное стимулирование цикла трикарбоновых кислот.

Необходимо отметить, что лимфоциты – это аэробные клетки и интенсивность кислород-зависимого дыхания влияет как на физиологическое состояние клеток, так и на уровень их реактивности [Савченко А.А. и др., 2011; Szabò I. et al., 2005]. Одним из исследуемых ферментов цикла трикарбоновых кислот является МДГ, характеризующая интенсивность субстратного потока на завершающей стадии цикла Кребса [Matsuda T. et al., 2010; Pérez A. et al., 2010; Wang Q. et al., 2010; Shi Q., Gibson G.E., 2011]. Активность фермента в лимфоцитах снижена независимо от степени тяжести РГП. Кроме того, у НАДГДГ и НАДФГДГ (ферменты, осуществляющие приток интермедиатов на энергетические процессы за счет реакций аминокислотного обмена) она также снижена. Причем, у больных с тяжелой степенью РГП она минимальна у НАДФГДГ. При этом отмечается и ингибирование НАДН- и НАДФН-зависимых реакций глутаматдегидрогеназ. Подобное состояние активности глутаматдегидрогеназ характеризует снижение ключевых реакций обмена азота в лимфоцитах крови больных РГП и понижение субстратного взаимодействия между энергетическими процессами и реакциями аминокислотного обмена.

Известно, что функционирование дыхательной цепи митохондрий зависит от уровня водородного градиента. НАДН-зависимая реакция МДГ является ключевой в системе малат-аспартатного шунта митохондрий [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Magori E. et al., 2005; Mali Y., Zisapel N., 2009]. Снижение активности данной реакции позволяет определить понижение активности аэробного дыхания лимфоцитов у больных РГП, кото-

рое развивается за счет как низкого уровня метаболических процессов в митохондриях, так и снижения водородного градиента.

Таким образом, независимо от степени тяжести РГП в лимфоцитах периферической крови снижены интенсивность анаэробного и аэробного дыхания, реактивность глутатион-зависимой антиоксидантной системы, а также уровень липидного анаболизма и субстратного взаимодействия между циклом трикарбоновых кислот и реакциями аминокислотного обмена. При средней степени тяжести РГП выявляется более выраженная реакция метаболизма лимфоцитов крови, характеризующаяся ингибированием ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла и аэробной реакции ЛДГ. В то же время, при тяжелой степени тяжести РГП в лимфоцитах крови выявляется более выраженное снижение активности НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназной реакции.

4.3.2. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания

Нейтрофильные гранулоциты представляют собой высокореактивное звено в иммунной системе. Они первыми мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной активности во многом зависит эффективность противомикробной защиты организма [Мечников И.И., 1901, 1947; Цинкернагель Р., 2008; Козлов В.А. и др., 2009]. Воспринимая многочисленные сигналы о дестабилизации внутренней среды, нейтрофилы модулируют свои функции, нацеленные на ее восстановление. Активированные нейтрофилы сами становятся мощными эффекторами пусковых и регуляторных механизмов каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Это связано с тем, что нейтрофильные гранулоциты способны не только в качестве эффекторов продуцировать цитотоксические молекулы, но и как регуляторные клетки синтезировать широкий спектр различных цитокинов [Козлов В.А. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010; Черешнев В.А., Шмагель К.В., 2011; Mariscalco M.M., 2011].

Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов характеризует состояние “респираторного взрыва”, который развивается при взаимодействии клеток с объектами фагоцитоза [Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В., 2009; Куртасова Л.М. и др., 2009]. Обсуждается значение синтеза ряда активных форм кислорода в системе внешнего киллинга [Куртасова Л.М. и др., 2009; Venbarek H. et al., 2012]. “Респираторный взрыв” относится к серии метаболических процессов, активность которых изменяется при стимуляции нейтрофилов: увеличение потребления кислорода и усиление окисления глюкозы в пентозофосфатном цикле [Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В., 2009; Куртасова Л.М. и др., 2009]. Однако за-

висимость интенсивности “респираторного взрыва” нейтрофильных гранулоцитов от основных ферментативных реакций, определяющих энергетическое и пластическое состояние клеток, до сих пор не исследована. В то же время, у больных РГП развивается мощная воспалительная реакция, эффективность которой во многом определяет тяжесть течения и исход заболевания. Изучение метаболических механизмов функционирования нейтрофильных гранулоцитов позволит получить те внутриклеточные мишени, при воздействии на которые можно модулировать уровень реактивности клеток.

При исследовании активности люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено, что только у больных с благоприятным исходом РГП повышается максимальная интенсивность спонтанной хемилюминесценции (табл. 4.4). Независимо от исхода заболе-

Т а б л и ц а 4.4

Люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от исхода РГП (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Контроль (n=135)		Благоприятный (n=28)		Неблагоприятный (n=22)	
	Ме	С ₂₅ – С ₇₅	Ме	С ₂₅ – С ₇₅	Ме	С ₂₅ – С ₇₅
Спонтанная хемилюминесценция						
Т _{max} , с.	2718	2010 - 3791	1789	1193 - 2518	2108	1655 - 2531
			p ₁ =0,002		p ₁ =0,024	
I _{max} , о.е. × 10 ³	5,68	2,55 - 14,06	24,09	10,70 - 57,91	10,73	2,68 - 21,09
			p ₁ =0,001			
S, о.е.× с. × 10 ⁶	2,28	0,96 - 5,85	2,25	1,40 - 6,00	1,79	1,75 - 2,61
Зимозан-индуцированная хемилюминесценция						
Т _{max} , с.	2064	1676 - 2722	2110	1401 - 2349	2164	1027 - 2559
I _{max} , о.е. × 10 ³	12,87	7,83 - 27,64	23,58	15,56 - 35,91	24,14	15,51 - 32,11
			p ₁ =0,017		p ₁ =0,048	
S, о.е.× с. × 10 ⁶	4,53	2,52 - 8,22	2,77	2,03 - 8,74	2,77	1,93 - 4,44
Синд./ Спонт.	2,04	1,20 - 3,60	1,50	0,89 - 2,09	2,38	1,29 - 7,39
			p ₁ =0,048		p ₂ =0,047	

Примечание: статистически достоверные различия с показателями: p₁ – контрольной группы; p₂ – больных с благоприятным исходом РГП.

вания при перитоните снижено время выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции и повышен максимум интенсивности зимозан-индуцированной хемилюминесценции. При благоприятном исходе заболевания снижен индекс активации по люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов.

Известно, что люцигенин окисляется и люминесцирует только под влиянием супероксид-радикала, который определяется как первичная активная форма кислорода и синтезируется в системе НАДФН-оксидазы [Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В., 2009; Куртасова Л.М. и др., 2009; Benbarek H. et al., 2012]. Следовательно, исследование люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов позволяет охарактеризовать состояние активности НАДФН-оксидазы в нейтрофильных гранулоцитах у больных РГП. Можно заключить, что у больных с благоприятным исходом РГП у НАДФН-оксидазы уже в состоянии относительного покоя нейтрофильных гранулоцитов она повышена, в то же время, при дополнительной индукции “респираторного взрыва” с помощью опсонизированного зимозана повышена как при благоприятном, так и при неблагоприятном исходе РГП. Однако снижение величины индекса активации при благоприятном исходе РГП определяет относительную недостаточность повышения интенсивности зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции.

Время выхода на максимум характеризует скорость развития “дыхательного взрыва” в случае регуляторного или антигенного воздействия на клетку. Спонтанная хемилюминесцентная реакция развивается за счет регуляторного влияния оптимизации температуры на метаболизм нейтрофильных гранулоцитов. Сокращение времени выхода на максимум спонтанной хемилюминесценции при РГП характеризует способность метаболической системы клеток к высокому уровню продукции супероксид-радикала. Отсутствие аналогичных изменений при дополнительной антигенной стимуляции клеток (зимозан-индуцированная хемилюминесценция) отражает предел в скорости активации НАДФН-оксидазы, который определяется метаболическими резервами клеток.

Цитотоксическая активность нейтрофильных гранулоцитов определяется уровнем продукции как первичных, так и вторичных активных форм (гидроксильный радикал, перекись водорода и др.) кислорода. В формировании пула вторичных форм кислорода в нейтрофильных гранулоцитах принимают участие такие ферменты, как супероксиддисмутаза, каталаза, миелопероксидаза и др. [Куртасова Л.М. и др., 2009; Benbarek H. et al., 2012]. Люминол способен вступать в хемилюминесцентную реакцию и с первичными, и с вторичными активными формами кислорода [Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В., 2009]. При исследовании интенсивности люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено, что независимо от исхода РГП у больных повышается макси-

мум интенсивности спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции (табл. 4.5). При этом более выраженное повышение интенсивности стимулированной хемилюминесценции определяет увеличение индекса активации нейтрофильных гранулоцитов. Следовательно, у больных РГП независимо от исхода заболевания уровень синтеза вторичных активных

Т а б л и ц а 4.5

Люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от исхода РГП (Ме, С₂₅ – С₇₅)

Показатели	Контроль (n=135)		Благоприятный (n=28)		Неблагоприятный (n=22)	
	Ме	С ₂₅ – С ₇₅	Ме	С ₂₅ – С ₇₅	Ме	С ₂₅ – С ₇₅
Спонтанная хемилюминесценция						
T _{max} , с.	981	615 - 1531	1102	884 - 1192	1157	951 - 1325
I _{max} , о.е. × 10 ³	7,59	3,05 - 15,58	29,37	14,46 - 43,13	30,90	19,04 - 38,46
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
S, о.е.× с. × 10 ⁶	2,18	1,09 - 5,60	3,01	1,73 - 5,78	3,17	2,21 - 7,74
Зимозан-индуцированная хемилюминесценция						
T _{max} , с.	1117	796 - 1489	1028	880 - 1327	1102	854 - 1377
I _{max} , о.е. × 10 ³	16,75	6,86 - 31,71	62,28	25,21 - 83,69	70,21	56,57 - 108,00
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
S, о.е.× с. × 10 ⁶	4,71	1,71 - 9,71	8,30	3,17 - 10,13	8,72	4,68 - 9,37
Синд./ Спонт.	1,72	1,33 - 2,42	2,68	1,57 - 3,59	2,26	1,77 - 3,39
			p ₁ =0,010		p ₁ =0,049	

Примечание: значение p₁ и p₂ см. в табл. 4.4.

форм кислорода повышен как в состоянии относительного покоя нейтрофильных гранулоцитов, так и при дополнительной индукции “респираторного взрыва” с помощью опсонизированного зимозана. Повышенный индекс активации характеризует наличие метаболических резервов для функциональной активации нейтрофилов.

Исследование уровней активности НАД- и НАДН-зависимых дегидрогеназ нейтрофильных гранулоцитов позволило установить, что только при неблагоприятном исходе заболевания в клетках повышена активность НАДИЦДГ и НАДН-ЛДГ (рис. 4.29). Независимо от исхода РГП в нейтрофильных гранулоцитах больных снижена активность ЛДГ и повышена активность НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ (рис. 4.29). При исследовании уровней активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ обнаружено, что независимо

от исхода РГП в нейтрофильных гранулоцитах крови она снижена у Г6ФДГ и НАДФГДГ, но повышена у НАДФИЦДГ (рис. 4.30).

В целом метаболизм нейтрофильных гранулоцитов у больных РГП характеризуется низкой активностью Г6ФДГ – ключевого и инициализирующего фермента пентозофосфатного цикла, от уровня которого зависит реализация ряда пластических процессов, а также стимуляция активности НАДФН-оксидазы. Низкая активность НАДФИЦДГ и высокая активность НАДН-ГДГ в нейтрофилах больных РГП определяет дисбаланс в реакциях обмена азота. При этом недостаточность реакций по восстановлению НАДФ^+ частично может компенсироваться высоким уровнем активности НАДФИЦДГ. Необходимо отметить, что данный фермент определяется как вспомогательный в цикле трикарбоновых кислот. И хотя нейтрофильные гранулоциты – преимущественно анаэробные клетки, обменные процессы митохондриального компартмента значимо влияют на их метаболизм. Кроме того, повышение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, являющейся ключевой в системе малат-аспартатного шунта митохондрий, также отражает изменения интенсивности реакций, связанных с аэробными энергетическими процессами. Активация обменных процессов в митохондриальном компартменте нейтрофильных гранулоцитов при РГП также определяется высокой активностью НАДН-ГДГ. Однако при интенсификации ряда реакций в митохондриях у больных наблюдается снижение аэробной реакции ЛДГ.

Особенность метаболизма нейтрофильных гранулоцитов у больных с неблагоприятным исходом РГП определяется повышением активности анаэробной реакции ЛДГ, характеризующей интенсивность терминальных реакций анаэробного гликолиза, и НАДИЦДГ – фермента, в значительной степени определяющего интенсивность субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот. Следовательно, интенсивность анаэробных и аэробных процессов в нейтрофильных гранулоцитах при неблагоприятном исходе РГП повышена.

Таким образом, установлены особенности метаболических механизмов хемилюминесцентной реакции нейтрофильных гранулоцитов у больных РГП в зависимости от исхода заболевания. Обнаружено, что при неблагоприятном исходе РГП в нейтрофильных гранулоцитах активированы ферментативные реакции, характеризующие интенсивность анаэробных и аэробных процессов.

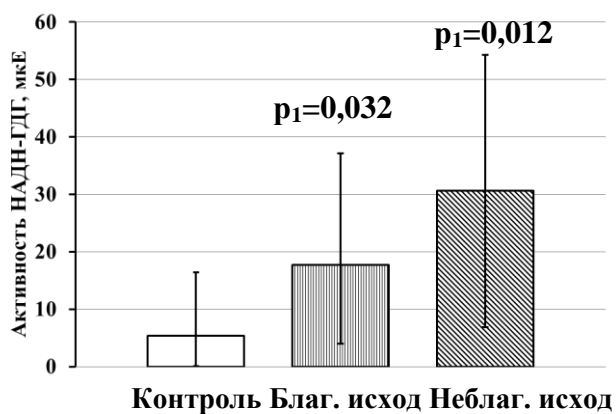
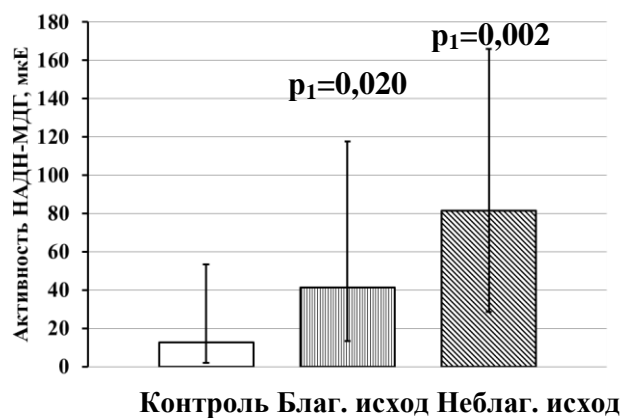
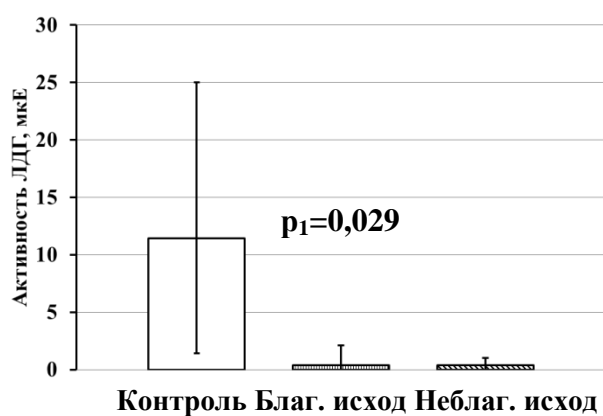
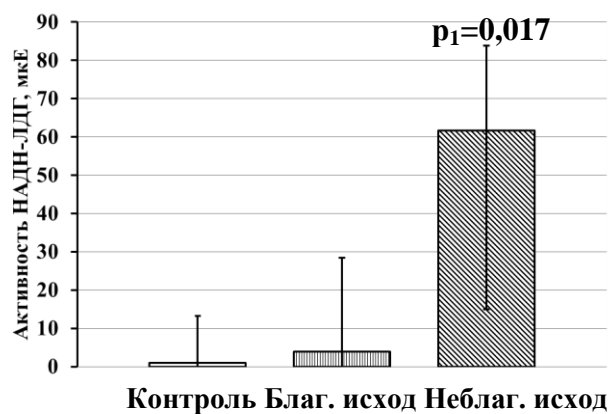
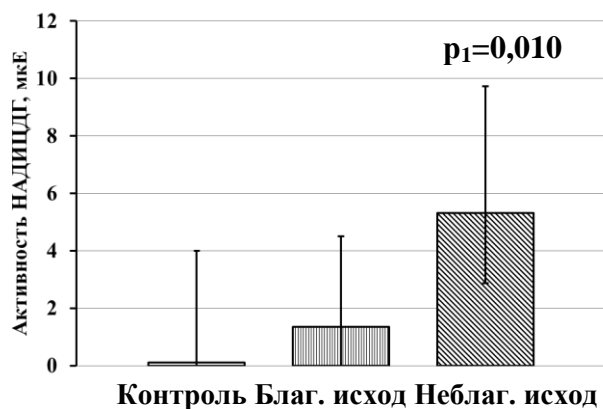


Рис. 4.29. Активность НАД- и НАДН-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах у больных РГП в зависимости от исхода заболевания. p_1 – статистически достоверные различия с контролем.

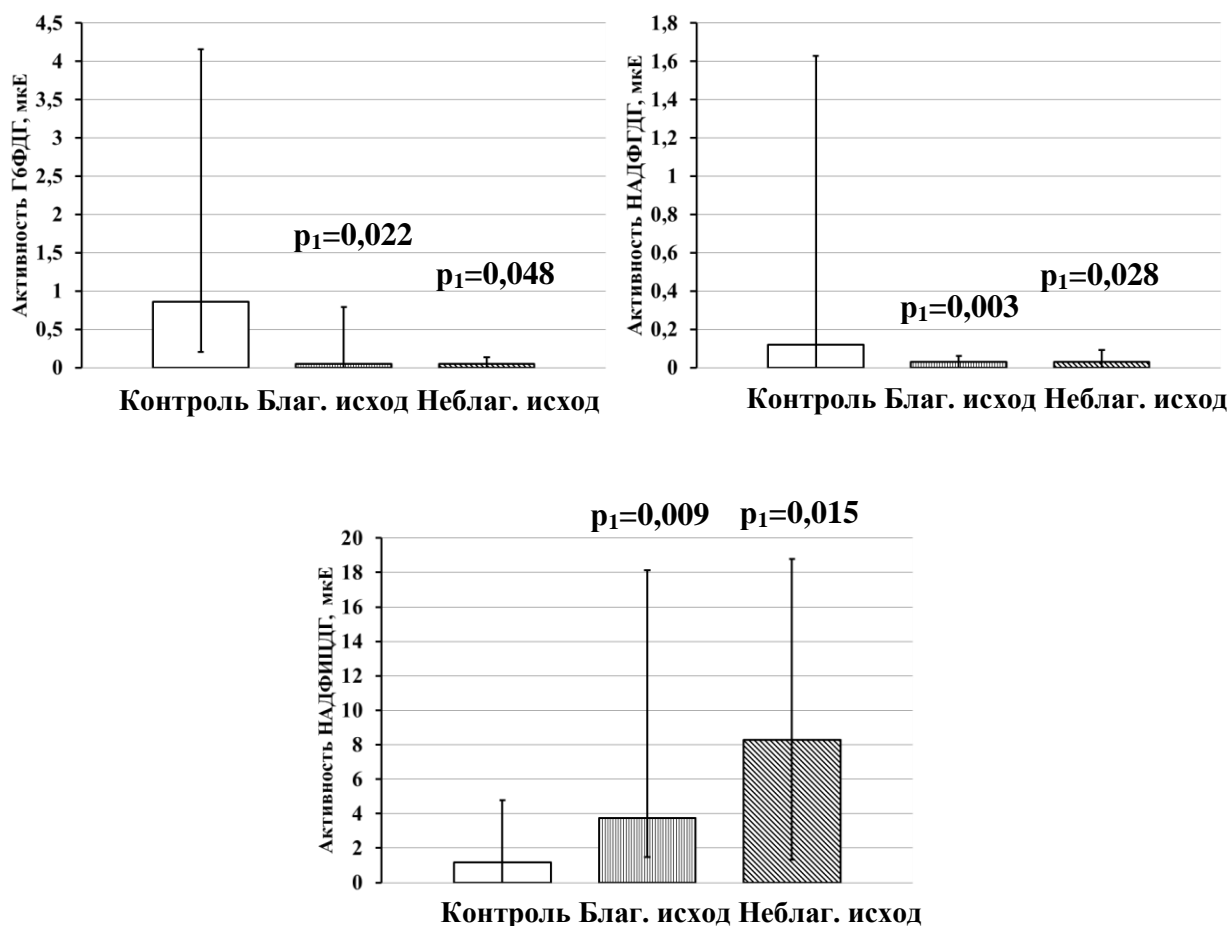


Рис. 4.30. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофилах у больных РГП в зависимости от исхода заболевания.

p_1 – статистически достоверные различия с контролем.

4.3.3. Активность НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у больных острыми и хроническими гайморитами

Патогенез гнойных воспалений околоносовых пазух сложен, а причины не всегда ясны, что вызывает затруднение в их лечении, частые рецидивы и осложнения. Острый гайморит является наиболее частым осложнением острой респираторной вирусной инфекции и стоит на одном из первых мест среди хронических заболеваний ЛОР-органов. В ряде случаев гаймориты отличаются упорным течением и трудно поддаются консервативному лечению [Бобров В.М. и др., 2007; Czecior E. et al., 2012; Hickner J., 2012; Ohe Y. et al., 2012; Won E.J. et al., 2012; Wu M.M. et al., 2012]. Общая тенденция к росту воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух связана со снижением иммунореак-

тивности населения, механизм которой также определяется нарушением метаболических процессов клеток иммунной системы

Под наблюдением находились 43 больных хроническим гайморитом (ХГ) в возрасте от 18 года до 45 лет в острый период заболевания и 38 человек с острым гайморитом (ОГ). Тяжесть заболевания оценивалась с учетом выраженности клинических симптомов, а также на основании гематологических изменений периферической крови.

При определении уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов обнаружено, что только у больных ОГ снижена активность Г6ФДГ (табл. 4.6). Как уже обсуждалось выше, данный фермент является ключевым и инициализирующим в пентозофосфатном цикле, продукты которого используются в реакциях макромолекулярного синтеза [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др., 2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al., 2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. Другая характерная особенность метаболизма лимфоцитов у больных ОГ – повышение активности НАДФН-ГДГ, осуществляющий восстановительное аминирование 2-оксоглутарата, тем самым принимая участие в системе внутриклеточного обмена азота и осуществляя перенос интермедиатов с реакций цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. Особенностью состояния метаболических процессов в лимфоцитах крови больных ХГ является повышение активности Г3ФДГ. Фермент характеризует уровень переноса продуктов липидного катаболизма на реакции анаэробного окисления глюкозы [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]. Следовательно, у больных с ХГ увеличена субстратная стимуляция гликолиза.

В обеих группах больных выявлено повышение активности НАДФМДГ и снижение активности МДГ. Активность МДГ характеризует уровень субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот (Matsuda T. et al., 2010; Pérez A. et al., 2010; Wang Q. et al., 2010; Shi Q., Gibson G.E., 2011). Следовательно, у больных ХГ и ОГ снижены обменные процессы в митохондриальном компартменте, что также может отрицательно влиять и на состоянии аэробного дыхания в целом. Возможно, повышение активности малик-фермента является, в этом случае, компенсаторным, что позволяет стимулировать реакции цикла Кребса за счет шунтирования.

Таким образом, состояние метаболизма лимфоцитов при гайморитах характеризуется снижением активности МДГ и компенсаторным повышением активности шунтирующей реакции малик-фермента. Особенностью метаболизма лимфоцитов у больных ОГ является снижение интенсивности субстратного потока на пентозофосфатный цикл и повышение НАДФН-зависимого субстратного оттока с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. При хронизации заболевания данные процессы нормализуются, но повышается уровень липидного катаболизма, что про-

Т а б л и ц а 4.6

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови у больных хроническим и острым гайморитом (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль (n =32)		Хронический гайморит (n =43)		Острый гайморит (n =38)	
	Me	C ₂₅ – C ₇₅	Me	C ₂₅ – C ₇₅	Me	C ₂₅ – C ₇₅
Г6ФДГ	2,14	0,56 – 10,75	2,30	0,07 – 10,72	0,29	0,03 – 4,03
					p ₁ <0,05	
ГЗФДГ	0,01	0,01 – 0,93	1,04	0,01 – 2,12	0,12	0,01 – 1,15
			p ₁ <0,05			
ЛДГ	6,90	1,93 – 16,75	11,80	4,91 – 18,67	5,61	1,13 – 13,33
					p ₂ <0,05	
НАДФМДГ	0,06	0,01 – 9,62	1,28	0,01 – 19,87	1,33	0,02 – 17,47
			p ₁ <0,05		p ₁ <0,05	
НАДФГДГ	0,01	0,001 – 0,01	0,01	0,01 – 0,16	0,01	0,01 – 0,11
НАДФИЦДГ	1,14	0,01 – 11,3	0,95	0,01 – 3,61	0,79	0,01 – 2,22
МДГ	54,50	13,31 – 153,46	7,94	1,07 – 27,51	6,17	0,01 – 41,19
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,01	
НАДГДГ	9,52	0,05 – 31,31	2,09	0,01 – 9,14	3,04	0,01 – 30,46
НАДИЦДГ	0,01	0,01 – 12,14	0,04	0,01 – 36,44	0,19	0,01 – 1,71
НАДН-ЛДГ	38,46	9,96 – 107,66	12,47	0,01 – 36,44	3,36	0,01 – 85,66
НАДН-МДГ	38,46	9,96 – 107,66	48,34	12,72 – 87,94	62,19	10,19 – 111,31
ГР	1,53	0,61 – 4,41	0,99	0,01 – 7,43	1,45	0,01 – 11,12
НАДФН-ГДГ	4,55	0,26 – 10,68	6,39	0,01 – 40,91	7,47	0,11 – 44,05
					p ₁ <0,05	
НАДН-ГДГ	7,71	3,38 – 29,38	3,19	0,21 – 28,26	3,75	0,63 – 11,04

Примечание: статистически достоверные различия с показателями: p₁ – контрольной группы; p₂ – больных с хроническими гайморитами.

является в субстратной стимуляции окислительно-восстановительных реакций гликолиза.

4.4. Метаболизм лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) и аутоиммунный тиреоидит (АИТ) относятся к наиболее распространенным органоспецифическим аутоиммунным заболеваниям и имеют сходную этиологию – аутоиммунный процесс, но различный патогенез, специфичность которого на уровне организма проявляется, в том числе, и уровнем тиреоидных гормонов [Шагарова С.Г., 2011; Brown R.S., 2009; Brent G.A., 2010; Eschler D.C. et al., 2011; Saranac L. et al., 2011; Simmonds M.J., Gough S.C., 2011; Саприна Т.В., 2012; Stathatos N., Daniels G.H., 2012]. Реактивность организма практически полностью определяется функциональной активностью иммунокомпетентных клеток. При этом доказано, что функциональная активность лимфоцитов зависит от интенсивности их метаболизма. Именно на уровне метаболической системы клеток формируются ответные реакции на воздействия, в том числе и гормональной природы.

Учитывая неоднозначность гормонального воздействия на лимфоциты при аутоиммунной патологии щитовидной железы, а также сложные взаимосвязи реакций внутриклеточного метаболизма, применение стандартных подходов к анализу данных не всегда позволяет оценить значения ферментативных реакций в патогенезе заболевания. С этой точки зрения перспективно использование самообучающихся нейронных сетей (нейросетевого анализа), осуществляющих комплексную оценку всего многообразия уровней изучаемых параметров и их взаимосвязей и позволяющих выявить скрытые неоднородности в распределении структурных показателей системы [Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998].

Диагноз ДТЗ и АИТ устанавливался на основании клинических данных, результатов гормонального анализа и ультразвукографии щитовидной железы. Для всех больных проводились морфологический анализ биопсийного материала щитовидной железы и радиоиммунный анализ концентрации тиреотропного и тиреоидных гормонов, антител к микросомальной фракции тиреоцитов и к тиреоглобулину.

Оценка значимости (информативность) внутриклеточных ферментов в модели осуществлялась с помощью нейросетевого классификатора Rana-lyzer 2004. Обучающая выборка была разбита на два класса: показатели здоровых женщин и больных АИТ либо ДТЗ. Информативность оценивалась измерением сигнала, подаваемого на входные синапсы нейросетевой

модели и представлена в относительных единицах (о.е.) [Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998].

Уровни активности исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у здоровых женщин и у больных аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы (АЗЩЖ) представлены в табл. 4.7. Обнаружено, что в лимфоцитах женщин с АЗЩЖ выявляются изменения активности исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ, как общие для двух данных патологий, так и специфические. К общим изменениям активности ферментов лимфоцитов крови у женщин с АЗЩЖ относительно здоровых относится снижение уровней МДГ, НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и ГР. В обеих исследуемых группах с патологией установлено увеличение активности НАДФН-ГДГ. Также у женщин с АЗЩЖ в лимфоцитах крови снижается уровень НАДФМДГ, но у больных с АИТ активность фермента понижается в меньшей степени, что приводит к проявлению тенденции повышения его уровня относительно аналогичного параметра у больных с ДТЗ. Только у женщин с ДТЗ обнаружено снижение активности НАДН-зависимых реакций ЛДГ и МДГ в лимфоцитах. В то же время, только у женщин с АИТ выявляется снижение активности Г6ФДГ и ЛДГ, но повышение уровня ГЗФДГ.

Метаболическая система является сложной и многокомпонентной, поэтому к ней применимы все определения и характеристики больших систем и ее можно определить как множество элементов, сложное взаимодействие которых приводит к образованию единого целого. Наиболее существенной качественной характеристикой системы является ее структурная связность. В связи с этим, в качестве метода системного статистического анализа нами использован нейросетевой анализ с помощью нейросетевого классификатора, который на основе дифференциального поиска закономерностей между совокупностью обучающих данных, в нашем случае, с бинарным распределением определяет информативность параметров [Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Горбань А.Н. и др., 1998]. Информативность введенных параметров позволяет классификатору правильно определить заданный класс, т.е. позволяет охарактеризовать систему введенных параметров не по среднестатистическим величинам, а по особенностям внутренних взаимосвязей.

Информативность метаболических ферментов, характеризующих особенности метаболизма лимфоцитов у женщин с АЗЩЖ, изучена с помощью нейросетевого классификатора (рис. 4.31). Обнаружено, что наиболее значимыми показателями модели здоровые – ДТЗ были уровни актив-

Т а б л и ц а 4.7

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у женщин с диффузным токсическим зобом и аутоиммунным тиреоидитом
($X \pm m$)

Показатели	Контроль (n=96)	ДТЗ (n=42)	АИТ (n=45)
Г6ФДГ	8,14±0,85	11,03±2,59	5,47±1,19 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
ГЗФДГ	0,13±0,03	0,31±0,14	0,39±0,09 $p_1 < 0,001$
ЛДГ	34,17±3,69	28,42±6,32	11,28±2,34 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
МДГ	137,29±19,40	15,99±2,11 $p_1 < 0,001$	16,50±2,60 $p_1 < 0,001$
НАДФМДГ	9,71±1,50	0,14±0,09 $p_1 < 0,01$	0,84±0,18 $p_1 < 0,001$ $0,1 > p_2 > 0,05$
НАДФГДГ	0,11±0,02	0,08±0,04	0,08±0,01
НАДГДГ	5,60±0,81	3,17±0,51	4,00±0,82
НАДИЦДГ	12,64±2,38	4,96±1,89 $0,1 > p_1 > 0,05$	3,33±0,55 $p_1 < 0,01$
НАДФИЦДГ	238,35±55,24	16,08±6,10 $p_1 < 0,001$	20,44±3,52 $p_1 < 0,001$
НАДН-ЛДГ	57,27±8,89	11,27±5,10 $p_1 < 0,05$	30,73±7,76 $0,1 > p_2 > 0,05$
НАДН-МДГ	92,49±9,71	15,25±4,60 $p_1 < 0,01$	103,43±23,91 $p_2 < 0,05$
ГР	10,26±1,81	13,93±3,74 $0,1 > p_1 > 0,05$	25,66±6,31 $0,1 > p_1 > 0,05$
НАДН-ГДГ	27,76±5,78	16,73±8,10	61,31±23,02
НАДФН-ГДГ	41,38±4,33	91,60±27,23 $0,1 > p_1 > 0,05$	80,02±13,82 $p_1 < 0,05$

Примечание: статистически достоверные различия: p_1 – с группой здоровых лиц; p_2 – между группами больных ДТЗ и АИТ.

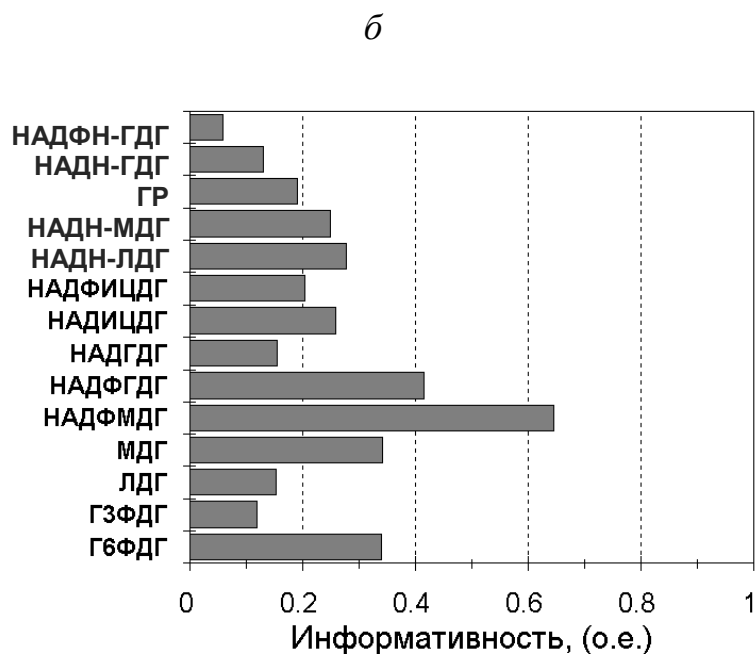
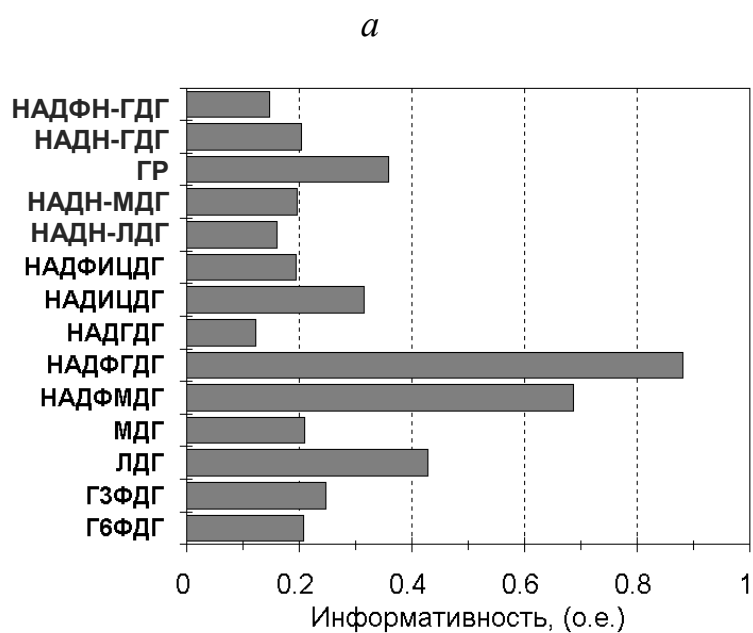


Рис. 4.31. Значимость уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов в моделях нейросетевого классификатора здоровые – ДТЗ (*a*) и здоровые – АИТ (*б*).

ности НАДФГДГ, НАДФМДГ, ЛДГ, ГР и НАДИЦДГ; в модели здоровые – АИТ – НАДФМДГ, НАДФГДГ, МДГ, Г6ФДГ и НАДН-ЛДГ. Следовательно, в обеих классификационных моделях уровни активности НАДФМДГ и НАДФГДГ определяются как наиболее информативные, характеризующие метаболические процессы в иммунокомпетентных клетках больных ДТЗ и

АИТ.

Как уже отмечалось выше, в основе патогенеза данных патологий лежит аутоиммунный процесс, исходом которого стали гипертиреоз (при ДТЗ) и гипотиреоз (при АИТ). В связи с этим, анализ полученных результатов проведен исходя из предположения, что общие изменения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови характеризуют аутоиммунный процесс, в то время как специфические особенности метаболизма иммунокомпетентных клеток определяются регуляторным воздействием разных доз тиреоидных гормонов.

С этой точки зрения, снижение активности ферментов, прежде всего определяющих метаболическое состояние митохондриального компартмента лимфоцитов (МДГ, НАДФМДГ, НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ), является, по-видимому, результатом, который определяется, в нашем случае, развитием в организме аутоиммунного процесса. Конечно, повышение реактивности лимфоцитов, в том числе сенсibilизированных к собственным антигенам, сопровождается активацией энергетических и синтетических процессов. Однако необходимо отметить, что при органоспецифических аутоиммунных заболеваниях сенсibilизированные к аутоантигенам лимфоциты находятся в органе-мишени. При этом активированными иммунокомпетентными клетками выделяется ряд цитокинов, которые влияют и на метаболизм лимфоцитов периферической крови. Можно предположить, что длительное воздействие цитокинов, стимулирующих метаболические реакции, определяющие активацию иммунокомпетентных клеток, приведет к истощению субстратного пула и соответственно ингибированию метаболических процессов.

Роль вспомогательных и шунтирующих реакций цикла трикарбоновых кислот достаточно важна для сохранения метаболического статуса митохондриального компартмента. Доказано, что в случае снижения активности НАД-зависимых процессов в митохондриях интенсивность субстратного потока лимонного цикла может быть компенсирована НАДФ-зависимыми реакциями глутамат- и изоцитратдегидрогеназы [Sidhu N.S. et al., 2011; Moon J.L. et al., 2012; Spanaki C., Plaitakis A., 2012]. Уровень активности шунтирующей реакции НАДФМДГ также важен как для энергетических процессов митохондрий, так и для метаболизма клеток в целом. Во-первых, данный фермент является ключевым во внутриклеточных реакциях анаболизма липидов. Во-вторых, НАДФМДГ, шунтируя реакции цикла Кребса, стимулирует окислительно-восстановительные процессы митохондриального компартмента [Kuo C.C. et al., 2008; Xu J. et al., 2008; Fu Z.Y. et al., 2009; Hsieh J.Y. et al., 2009]. Таким образом, снижение активности НАД-зависимых оксидоредуктаз цикла трикарбоновых кислот, а также вспомогательных и шунтирующих НАДФ-зависимых ферментов определяет снижение энергетического потенциала лимфоцитов у женщин с АЗЩЖ. Именно значимостью НАДФГДГ и НАДФМДГ во внутриклеточ-

ном метаболизме, а также снижением активности НАДФМДГ, по-видимому, определяется наибольшая информативность данных ферментов в моделях нейросетевого классификатора здоровые – ДТЗ и здоровые – АИТ.

Общими для метаболизма клеток иммунной системы у женщин с ДТЗ и АИТ являются снижение активности ГР и повышение уровня обратной реакции НАДФГДГ. Активность ГР в значительной степени определяется внутриклеточной концентрацией НАДФН. Доказано, что в ряде клеток (например, в эритроцитах) ГР находится в межферментном комплексе с Г6ФДГ [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ninfali P. et al., 1996; Bülbül M., Erat M., 2008; Tandogan B. et al., 2011]. В связи с этим, можно предположить, что снижение активности ГР определяется понижением концентрации НАДФН. Действительно, в лимфоцитах крови больных АЗЩЖ установлено снижение активности НАДФМДГ и НАДФИЦДГ, у женщин с АИТ – также снижен уровень активности Г6ФДГ. Кроме того, повышение уровня НАДФН-ГДГ, осуществляющей аминирование α -кетокислоты в аминокислоту, может указывать не только на интенсификацию белковых синтетических процессов, но и на дополнительное снижение концентрации НАДФН.

Тем не менее у женщин с ДТЗ и АИТ на фоне общих изменений метаболизма лимфоцитов, характеризующих, прежде всего, снижение активности оксидоредуктаз, определяющих аэробные энергетические процессы, выявляются специфические особенности, которые, по-видимому, определяются воздействием разных доз тиреоидных гормонов. Специфической особенностью метаболизма иммунокомпетентных клеток крови у женщин с ДТЗ является снижение активности НАДН-зависимых реакций ЛДГ и МДГ. При этом повышается регуляторная роль аэробной реакции ЛДГ, что определяется с помощью нейросетевого классификатора. Снижение активности НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ может также определяться понижением интенсивности гликолиза и соответственно низкой концентрацией НАДН в цитоплазматическом компартменте.

В то же время, в лимфоцитах женщин с АИТ выявляются специфические изменения активности метаболических ферментов лимфоцитов крови, которые отражают процессы, стимулирующие гликолиз. Так, снижение активности Г6ФДГ (ключевого и инициализирующего фермента пентозофосфатного цикла) может привести к снижению интенсивности реакций макромолекулярного цикла, зависящих от рибозо-5-фосфата и НАДФН [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др., 2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al., 2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. Но в то же время, пентозофосфатный цикл является основным конкурентом гликолиза за субстрат. Следовательно, снижение активности Г6ФДГ будет стимулировать интенсивность гликолиза. Метаболическое значение Г3ФДГ заключается в переносе продуктов катаболизма липидов

на окислительно-восстановительные реакции гликолиза, т.е., повышение активности ГЗФДГ в лимфоцитах больных АИТ позволяет предположить стимулирование субстратного потока по гликолизу продуктами липидного катаболизма и соответственно – более выраженную “анаэробность” клеток иммунной системы. Вероятно, в связи с этим Г6ФДГ и анаэробная реакция ЛДГ лимфоцитов крови у женщин с АИТ являются одними из наиболее информативных параметров нейросетевой модели.

Таким образом, особенностью метаболизма лимфоцитов периферической крови, характеризующих длительно текущие аутоиммунные органоспецифические процессы у женщин с ДТЗ и АИТ, является, прежде всего, снижение активности ферментов, определяющих уровень аэробного дыхания. В то же время, особенность метаболизма лимфоцитов больных ДТЗ состоит в том, что при понижении активности ферментов, определяющих интенсивность аэробных энергетических процессов, установлены изменения активности ферментов, позволяющие предполагать снижение субстратного потока по гликолизу. У больных АИТ, наоборот, обнаружены изменения ряда цитоплазматических дегидрогеназ, изменение активности которых стимулирует интенсивность гликолиза.

Интенсивность аутоиммунного процесса можно охарактеризовать уровнем аутоантител к тканеспецифическим антигенам. Исследованы уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у женщин с ДТЗ в зависимости от концентрации антител к тиреоидной пероксидазе (АТкТПО).

При исследовании уровней активности НАДФ- и НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ДТЗ в зависимости от уровня АТкТПО обнаружено, что только у больных с уровнем содержания АТкТПО меньше 100 мЕд/л снижена активность НАДФИЦДГ (рис. 4.32). Уровни активности НАДФГДГ, ГР и НАДН-ЛДГ повышены в лимфоцитах больных ДТЗ относительно контрольных значений независимо от уровня содержания АТкТПО (рис. 4.32). Также независимо от содержания АТкТПО у больных ДТЗ относительно контрольных уровней повышены активности НАДГДГ, НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ (рис. 4.33). При этом необходимо отметить, что только у больных ДТЗ с уровнем содержания АТкТПО меньше 100 мЕд/л выявляются отрицательные взаимосвязи между концентрацией аутоантител и активностью НАДН-ГДГ ($r = -0,49$, $p = 0,029$) и НАДФН-ГДГ ($r = -0,52$, $p = 0,020$).

В целом необходимо отметить, что различия в особенностях метаболического состояния лимфоцитов больных ДТЗ в зависимости от уровня содержания АТкТПО незначительны. НАДФИЦДГ катализирует вспомогательную дегидрогеназную реакцию цикла трикарбоновых кислот, значимость которой возрастает при повышении уровня НАДН/НАД в митохондриальном компартменте и соответственно ингибировании НАД-зависимого субстратного потока [Kil I.S. et al., 2011; Moon J.L. et al., 2012].

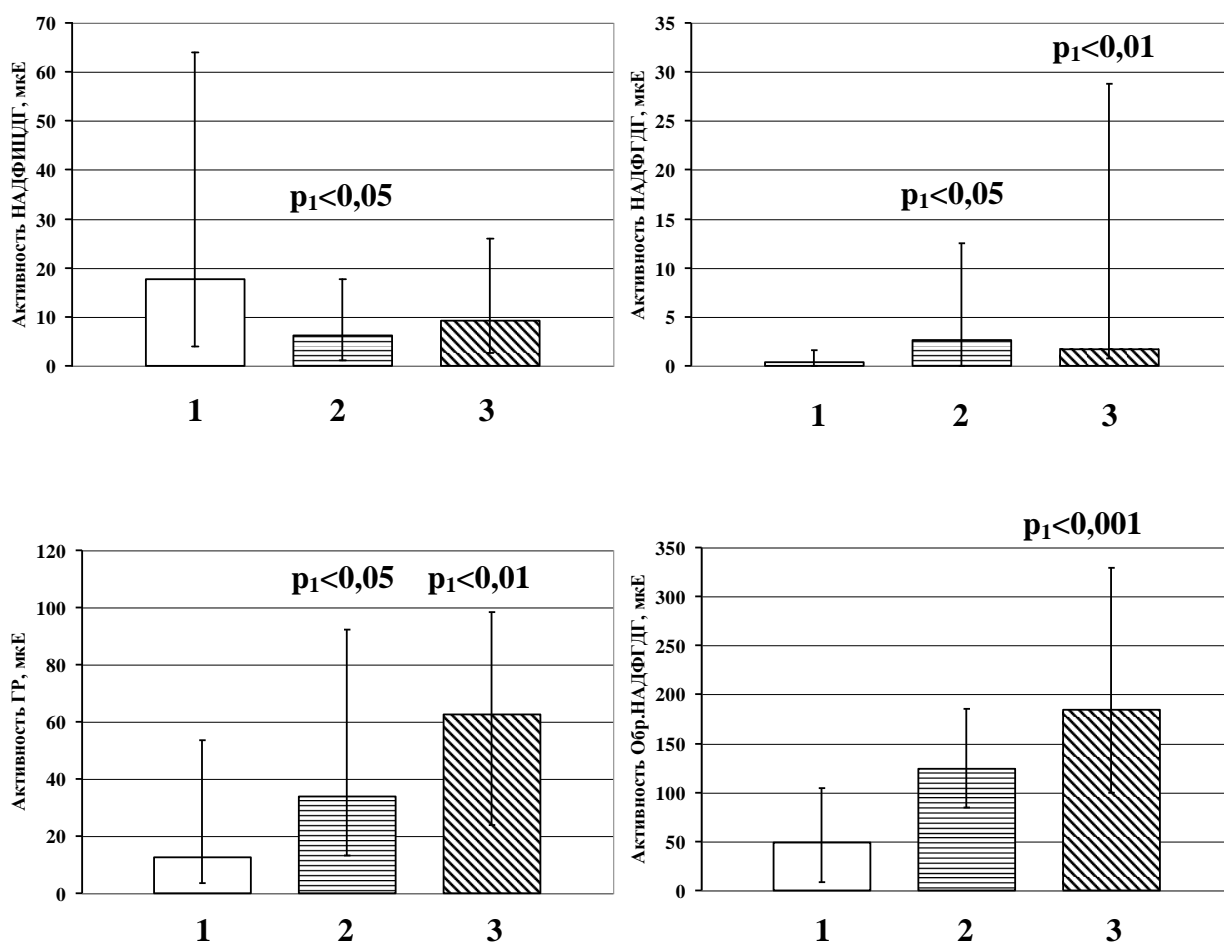
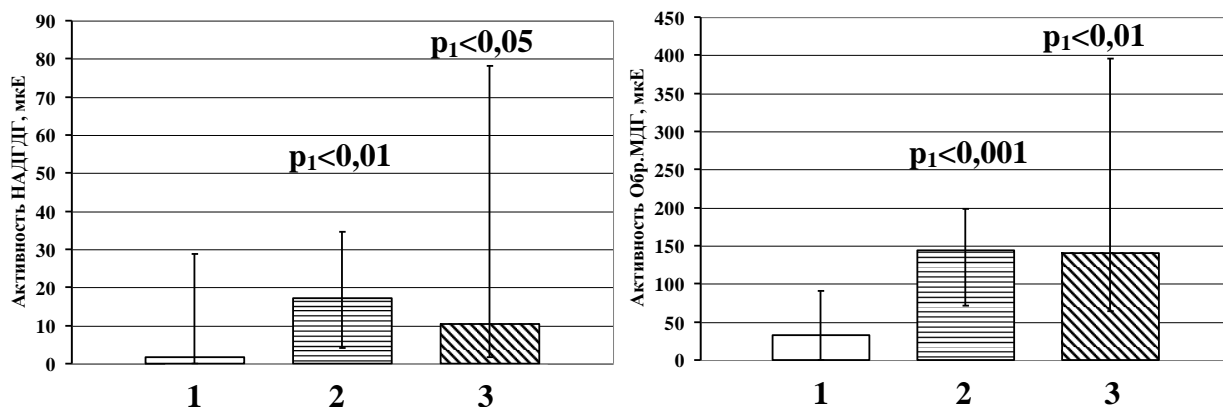


Рис. 4.32. Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ДТЗ в зависимости от уровня АТкТПО.
 1 – контроль; 2 – больные ДТЗ с уровнем АТкТПО меньше 100 мЕд/л; 3 – больные ДТЗ с уровнем АТкТПО больше 100 мЕд/л.

Следовательно, у больных ДТЗ с уровнем содержания АТкТПО меньше 100 мЕд/л при активации НАД-зависимого субстратного потока снижается возможность компенсаторного окисления через НАДФ-зависимые дегидрогеназные реакции. При этом независимо от уровня содержания АТкТПО, метаболизм лимфоцитов больных ДТЗ характеризуется активацией субстратного взаимодействия между циклом трикарбоновых кислот и реакциями аминокислотного обмена (через НАД- и НАДФ-зависимые реакции глутаматдегидрогеназ). Кроме того, повышение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, являющейся ключевой в малат-аспаратном шунте, отражает повышение интенсивности процессов в ды-



в)

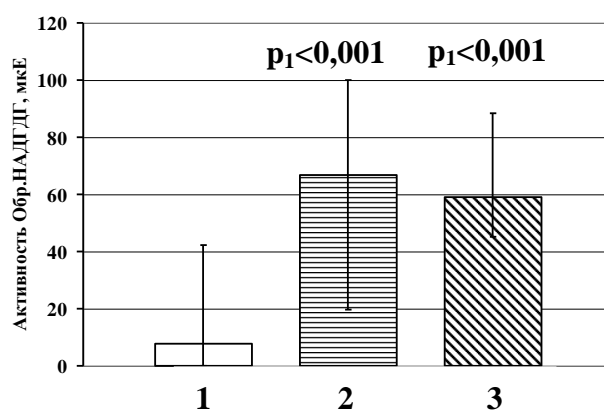


Рис. 4.33. Активность НАД-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ДТЗ в зависимости от уровня АТкТПО.

Усл. обозн. см. на рис. 4.32.

хательной цепи митохондрий [Lu M. et al., 2011; Abbrescia D.I. et al., 2012]. Необходимо отметить, что тиреоидные гормоны активируют аэробное дыхание и внутриклеточный белковый обмен [Chattopadhyay S. et al., 2010; Cheng S.Y. et al., 2010]. По-видимому, активация ряда метаболических реакций осуществляется на фоне возрастания уровня перекисных процессов, что определяется повышением активности ГР, входящей в состав основной антиоксидантной системы клеток – глутатион-зависимой [Сафонова О.А. и др., 2011; Ефременко Е.С. и др., 2012; Waggiallah H., Alzohairy M., 2011; Djukic M.M. et al., 2012; Niedźwiedz A. et al., 2012; Yan J. et al., 2012].

По результатам корреляционного анализа установлена обратная зависимость между уровнями активности НАДН-ГДГ и НАДФН-ГДГ и содержанием АТкТПО в группе больных ДТЗ с низким количеством аутоантител. Выявленная зависимость определяет снижение оттока субстратов с

цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена при увеличении содержания АТкТПО у больных до уровня 100 мЕд/л. Следовательно, выявляется разнонаправленность в изменении интенсивности данных ферментативных реакций: под действием высокого уровня тиреоидных гормонов они активируются, при повышенном уровне аутоиммунных процессов ингибируются.

Таким образом, со стороны метаболизма лимфоцитов выраженных различий в зависимости от уровня АТкТПО у больных ДТЗ не обнаружено. Метаболизм лимфоцитов при ДТЗ в целом характеризуется высокой активностью глутаматдегидрогеназ, осуществляющих субстратное взаимодействие цикла трикарбоновых кислот и реакций аминокислотного обмена, малат-аспартатного шунта и глутатионредуктазы. Только у больных ДТЗ с содержанием АТкТПО меньше 100 мЕд/л выявляется снижение активности НАДФИЦДГ. С помощью корреляционного анализа установлена разнонаправленность в регуляторном влиянии на метаболизм лимфоцитов высокого уровня тиреоидных гормонов и АТкТПО. У больных ДТЗ с содержанием АТкТПО больше 100 мЕд/л выявляется усиление дизрегуляторных процессов, проявляющееся в полной потере взаимосвязей концентрации АТкТПО с иммунологическими показателями и уровнями активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов.

4.5. Метаболизм лимфоцитов при аллергических заболеваниях

Широкое распространение аллергических заболеваний в экономически развитых странах неразрывно связано с концентрацией населения в крупных промышленных центрах, с загрязнением атмосферы, почвы и водоемов многочисленными продуктами и отходами современного производства [Лазуткина Е.Л. и др., 2012; Assa'ad A., Fiocchi A., 2012; Gómez E. et al., 2012; Nagler C.R., 2012; Yawn B.P., Fenton M.J., 2012]. В связи с этим, аллергические заболевания определяют как “болезни цивилизации”, которые по социально-экономическому ущербу занимают одно из первых мест.

Аллергические реакции организма различны по своим механизмам и проявлениям. С учетом основных патогенетических механизмов выделяют две формы аллергии: истинную аллергию и псевдоаллергию [Савченко А.А., Смирнова С.В., 2001; Савченко А.А. и др., 2002; Козлов В.А. и др., 2009], но их общим патогенетическим звеном является выброс значительного количества биологически активных веществ, поэтому исследования механизмов иммунореактивности при специфической и неспецифической формах аллергии являются актуальными. Именно реактивность клеток иммунной системы обуславливает функциональное и патоморфологическое проявление патологии. В то же время, иммунокомпетентные клетки

имеют богатый набор рецепторов, что делает их высокочувствительными к разнообразным нарушениям системы гомеостаза организма [Козлов В.А. и др., 2009; Савченко А.А. и др., 2011].

Реализация модулирующего воздействия биологически активных веществ осуществляется через метаболическую систему лимфоцитов, которая, в свою очередь, определяет функциональную активность клеток иммунной системы [Козлов В.А. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010]. Учитывая сложность метаболических взаимосвязей, необходимо для исследования параметров внутриклеточного обмена веществ применять методы системного анализа, наиболее перспективен нейросетевой анализ [Горбань А.Н., Россиев Д.А., 1996; Нейроинформатика, 1998].

Больные обследованы в аллергологическом кабинете с использованием дифференциальных критериев диагностики истинной аллергии и псевдоаллергии, а также современных методов специфической аллергологической диагностики: 1) целенаправленного и тщательного сбора аллергологического анамнеза; 2) оценки клинической картины заболевания; 3) постановки скарификационных проб с неинфекционными аллергенами; 4) проведения элиминационных и провокационных тестов (по показаниям); 5) определения и специфического IgE в сыворотке крови на аппарате 3M Diagnostic Systems Bio Whittakes (USA): Total IgE II FAST и IgE FAST-Plus.

Уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией представлены в табл. 4.8. Обнаружено, что у обследуемых больных изменение внутриклеточной активности оксидоредуктаз относительно контрольной группы во многом совпадает. Так, у больных независимо от наличия иммунного компонента аллергической реакции в лимфоцитах крови статистически достоверно возрастает активность Г6ФДГ, Г3ФДГ, ЛДГ, МДГ, пируватдегидрогеназного комплекса (ПДГК) и НАДН-МДГ. В то же время, уровни НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ статистически достоверно выше у больных истинной аллергией. Только при специфической аллергической реакции в лимфоцитах крови повышается активность НАДГДГ, 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (ОГДГК) и НАДН-ЛДГ.

Исследуемые ферменты структурно располагаются в разных компартментах клеток и характеризуют интенсивность энергетических и пластических реакций. Так, увеличение активности Г6ФДГ отражает повышение интенсивности окислительных реакций пентозофосфатного цикла и соответственно наработки НАДФН и рибозо-5-фосфата, которые используются для макромолекулярного синтеза [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Гаврилюк Л.А. и др., 2011; Ozlü F. et al., 2011; Hamilton N.M. et al., 2012; Stanton R.C., 2012; Zhao G. et al., 2012]. По-видимому, значение пентозофосфатного цикла повышается именно при активации лимфоцитов, в то время как синтез продуктов цикла снижется при снижении функциональной активности иммунокомпетентных клеток.

Т а б л и ц а 4.8

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) в лимфоцитах крови у
больных истинной аллергией и псевдоаллергией ($X \pm m$)

Показатели	Контроль (n=25)	Истинная аллергия (n=36)	Псевдоаллергия (n=19)
Г6ФДГ	2,06±0,38	3,66±0,47 0,1>p ₁ >0,05	4,20±0,75 p ₁ <0,05
Г3ФДГ	0,01±0,001	2,66±0,53 p ₁ <0,001	2,54±0,85 p ₁ <0,001
ЛДГ	31,14±4,51	65,97±6,76 p ₁ <0,01	78,40±10,46 p ₁ <0,001
МДГ	34,70±4,31	104,22±15,67 p ₁ <0,001	101,62±10,02 p ₁ <0,001
НАДФМДГ	7,35±1,41	5,39±1,11	9,93±2,98
НАДФГДГ	0,21±0,04	0,23±0,05	0,22±0,05
НАДГДГ	1,45±0,15	13,27±2,73 p ₁ <0,001	1,31±0,22 p ₂ <0,001
ПДГК	0,98±0,09	6,48±1,77 p ₁ <0,001	9,74±3,65 p ₁ <0,001
ОГДГК	0,15±0,02	0,68±0,21 P ₁ <0,01	0,20±0,02 p ₂ <0,05
НАДИЦДГ	5,17±0,53	198,00±34,68 p ₁ <0,001	101,97±25,91 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
НАДФИЦДГ	10,12±1,14	122,16±27,44 p ₁ <0,001	58,01±13,81 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
НАДН-ЛДГ	4,75±1,42	64,70±16,90 p ₁ <0,01	2,98±0,78 p ₂ <0,01
НАДН-МДГ	52,12±10,29	175,79±31,09 p ₁ <0,05	182,03±43,36 p ₁ <0,01
ГР	57,30±10,39	52,80±5,07	58,86±7,31
НАДН-ГДГ	141,31±27,14	188,08±21,01	150,28±26,29
НАДФН-ГДГ	300,16±65,26	332,74±48,42	351,26±60,01

Примечание: статистически достоверные различия с показателями: p₁ – лиц контрольной группы; p₂ – больных с истинной аллергией.

Пентозофосфатный цикл является основным конкурентом гликолиза за субстрат [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Snoep J.L. et al., 1996; Ramnanan C.J., Storey K.B., 2006; Mailloux R.J., Harper M.E., 2010]. Следовательно, повышение активности Г6ФДГ в лимфоцитах крови больных истинной аллергией и псевдоаллергией должно привести к снижению интенсивности реакций гликолиза. Однако установленное повышение активности анаэробной реакции ЛДГ (НАДН-ЛДГ) и НАДН-МДГ может проявляться только во взаимосвязи с высокой интенсивностью терминальных стадий гликолиза и накоплением в цитоплазматическом компартменте клеток иммунной системы НАДН. При этом необходимо отметить, что если в лимфоцитах крови у больных истинной аллергией повышается активность и анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-МДГ, то в клетках иммунной системы лиц с псевдоаллергией возрастает только уровень НАДН-МДГ.

Одним из механизмов активирующих реакции гликолиза является дополнительный приток субстратов через Г3ФДГ. Данный фермент осуществляет перенос продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1998; Ishijima S. et al., 2008; Tsang W.Y. et al., 2008; Yeh J.I. et al., 2008; Kota V. et al., 2010; Saheki T. et al., 2011; de la Roche M. et al., 2012]. Обнаружено, что в лимфоцитах больных истинной аллергией и псевдоаллергией активность Г3ФДГ повышается.

Энергетические реакции лимфоцитов осуществляются за счет не только анаэробного окисления глюкозы, но и кислород-зависимых процессов. Анализ уровней активности исследуемых оксидоредуктаз лимфоцитов крови больных с истинной и псевдоаллергией позволяет предположить активацию митохондриальных энергетических реакций. Так, повышение активности аэробной реакции ЛДГ и ПДГК вызывает более интенсивный приток субстратов на реакции цикла трикарбоновых кислот. Однако выявленная активация оксидоредуктаз цикла Кребса в лимфоцитах различается у больных истинной аллергией и псевдоаллергией. В клетках больных с истинной аллергией обнаружено увеличение активности всех исследуемых дегидрогеназ лимонного цикла (МДГ, НАДИЦДГ и ОГДГК). Более того, установлено повышение уровня НАДГДГ (осуществляется перенос субстратов с реакций аминокислотного обмена на окислительно-восстановительные реакции цикла Кребса) и НАДФИЦДГ (вспомогательная дегидрогеназная реакция цикла Кребса). В лимфоцитах крови лиц с псевдоаллергией также обнаружено увеличение активности МДГ. Однако уровни НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ повышаются значительно слабее, чем у больных с истинной аллергией, в то время как активность НАДГДГ и ОГДГК остается на уровне нормы. Следовательно, можно предположить, что в лимфоцитах крови лиц с псевдоаллергическими процессами активация митохондриальных окислительно-восстановительных реакций менее выражена, чем у больных истинной аллергией.

Как уже отмечалось, общим патогенетическим процессом истинной и псевдоаллергических реакций является выброс большого количества биологически активных веществ из тучных клеток и базофилов, получивших название “медиаторов аллергии” [Козлов В.А. и др., 2009; Ярилин А.А., 2010; Мокронослова М.А., Коровкина Е.С., 2012; Miyazaki D. et al., 2008]. При этом доказано, что воздействие медиаторов аллергии на иммунокомпетентные клетки приводит к повышению функциональной активности лимфоцитов. В связи с этим можно предположить, что общие изменения активности исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов характеризуют метаболический ответ иммунокомпетентных клеток при воздействии на них медиаторов аллергии. В то же время, специфические особенности уровней активности ферментов в лимфоцитах у больных истинной аллергией отражают метаболические реакции активированных клеток иммунной системы, патогенетически определяющих иммунную основу специфической аллергии. Следовательно, более выраженное повышение интенсивности реакций гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в лимфоцитах больных истинной аллергией отражает не только метаболический ответ на выброс биологически активных веществ при аллергической реакции, но и специфическую активацию лимфоцитов.

Информативность исследуемых НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ, характеризующих особенности метаболизма лимфоцитов больных истинной аллергией и псевдоаллергией, изучена с помощью нейросетевого классификатора. Обнаружено, что в нейросетевой модели здоровые – больные истинной аллергией наиболее значимыми показателями были НАДФМДГ, Г6ФДГ, Г3ФДГ, НАДН-ГДГ и НАДФГДГ (рис. 4.34), а в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные псевдоаллергией – ПДГК, ГР, НАДФН-ГДГ, НАДН-ЛДГ и МДГ (рис. 4.35). Подобный результат нейросетевого моделирования позволяет утверждать, что информативность показателей не связана с уровнем различий их средних значений. Кроме того, в двух представленных нейросетевых моделях метаболические параметры с высокой степенью информативности полностью различаются. Причем, при выраженной активации гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в лимфоцитах крови больных истинной аллергией высокой степенью значимости обладают ферменты пластического обмена: Г6ФДГ, НАДФМДГ и НАДФГДГ. И, наоборот, у лиц с псевдоаллергией при более низком уровне активации гликолиза и цикла Кребса, чем у больных истинной аллергией, наиболее информативными параметрами метаболизма лимфоцитов стали ферменты, отражающие энергетический обмен: ПДГК, НАДН-ЛДГ и МДГ. Для сравнения особенностей метаболизма лимфоцитов больных истинной аллергией и псевдоаллергией была построена нейросетевая модель больные истинной аллергией – больные псевдоаллергией (рис. 4.36). Обнаружено, что наиболее информативными ме-

таблическими показателями модели стали НАДФИЦДГ, НАДФМДГ, НАДН-ЛДГ, ЛДГ и НАДН-МДГ.

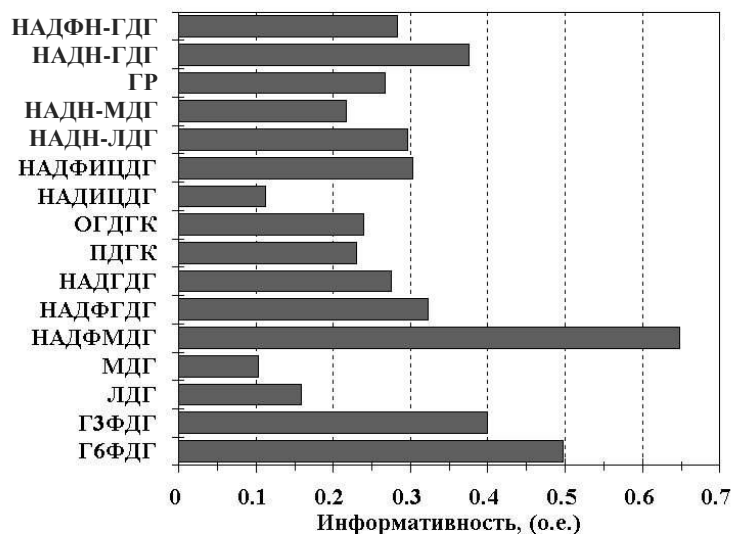


Рис. 4.34. Информативность уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные истинной аллергией.

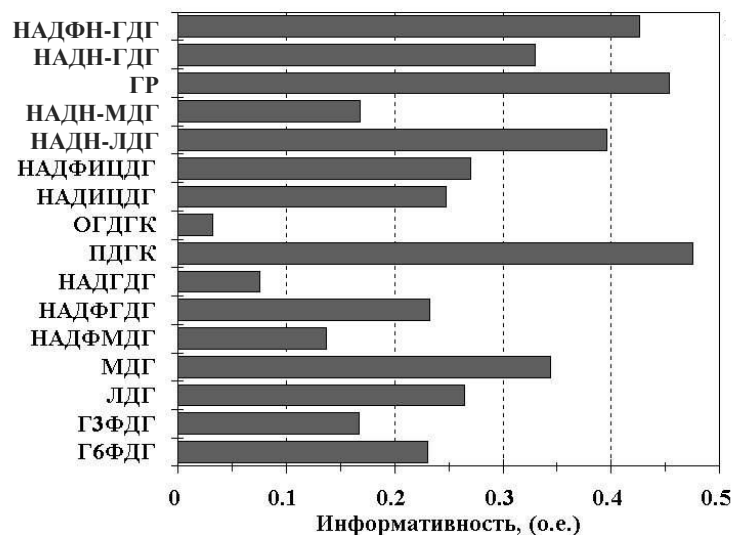


Рис. 4.35. Информативность уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в модели нейросетевого классификатора здоровые – больные псевдоаллергией.

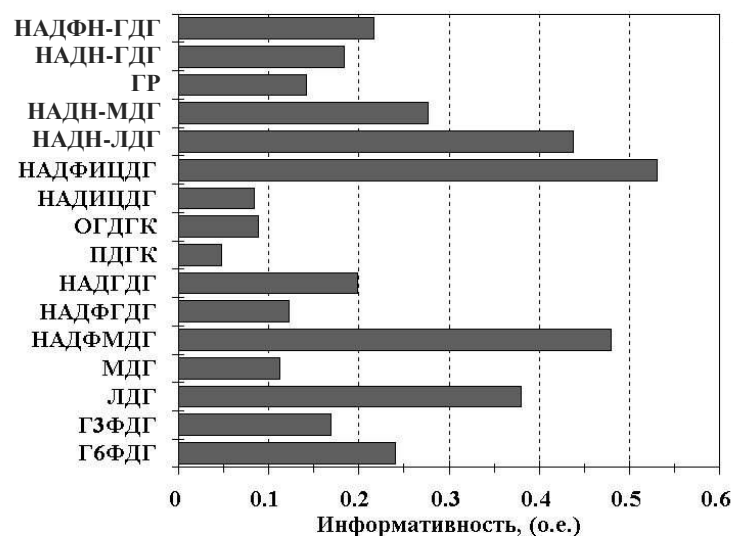


Рис. 4.36. Информативность уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в модели нейросетевого классификатора больные истинной аллергией – больные псевдоаллергией.

Мы считаем, что при нейросетевом моделировании определяются “точки напряжения” в системе исследуемых показателей, которые наиболее полно характеризуют описываемую систему параметров. Действительно, выраженная активация реакций энергетического обмена в лимфоцитах крови больных истинной аллергией может привести к оттоку субстратов с пластических процессов. Отсутствие подобного связано, по-видимому, с наличием метаболических резервов и поступлением необходимых интермедиатов в клетки. Однако в случае развития недостаточности притока необходимых интермедиатов и истощении внутриклеточных резервов может развиваться метаболическая недостаточность и соответственно снижение функциональной активности клеток иммунной системы. Вероятно, именно по данному механизму при аллергиях может развиваться иммунодефицитное состояние.

Уровень активации реакций энергетического обмена в лимфоцитах у лиц с псевдоаллергической реакцией ниже, чем у больных истинной аллергией. В связи с этим “точками напряжения” метаболической системы являются ферменты гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Это подтверждается моделью больные истинной аллергией – больные псевдоаллергией.

Таким образом, при исследовании активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией обнаружено увеличение интенсивности реакций, опре-

деляющих функции пентозофосфатного цикла, гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Однако увеличение активности ферментов, отражающих интенсивность анаэробного и аэробного дыхания лимфоцитов у больных истинной аллергией выше, чем у лиц с псевдоаллергией. В связи с этим предполагается, что для реализации повышенной функциональной активности лимфоцитов при истинной аллергии необходимо выраженное увеличение энергетических процессов. В то же время, изменение активности исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у лиц с псевдоаллергией определяется выбросом в кровь “медиаторов аллергии”. Применение нейросетевого моделирования позволило установить ферменты, наиболее информативно характеризующие метаболическую систему лимфоцитов при данных патологических состояниях.

Глава 5. ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

Проблема восстановления функционального состояния иммунной системы при лечении больных различной патологией не требует обоснования. Современные достижения иммунологии и других смежных специальностей, а также разработка новых иммуностропных препаратов позволяют врачу оказать реальную и долговременную помощь больному с иммунными нарушениями. Однако назначение только иммуноактивных средств не всегда приводит к положительным результатам. Связано это, прежде всего с тем, что стандартное лечение проводится без учета всех патогенетических факторов развития болезни. При этом терапия должна быть комплексной, с учетом этиологии и патогенеза иммунных нарушений, и включать в себя следующие лечебные мероприятия:

- 1 – выявление и по возможности устранения причины, вызывающей иммунные нарушения;
- 2 – устранение патогенного агента;
- 3 – проведение при необходимости иммуноактивной терапии;
- 4 – осуществление мероприятий, направленных на нормализацию состояния клеточного окружения, в том числе все необходимые виды детоксикации;
- 5 – применение средств, улучшающих метаболизм клеток иммунной системы.

Прежде всего необходимо выявить и по возможности исключить причины, вызвавшие иммунные нарушения. В настоящее время практически невозможно восстановить генетические нарушения, однако устранение причин индуцированных иммунодефицитов (см. гл. 3) – обязательное условие лечения больного с нарушениями функции иммунной системы.

Следующее мероприятие, успешно применяемое у больных с иммунопатологией, – выявление и устранение патогенного агента. Санационные мероприятия, этиотропная терапия и нормализация микрофлоры являются базовыми назначениями при лечении больных с иммунными нарушениями. Особого внимания заслуживает применения этиотропной терапии, что

должно быть обосновано с учетом выявленного возбудителя. Так, при транзиторных иммунодефицитах легкой степени применение этиотропной терапии не показано.

Наиболее сложным является применение иммуотропных препаратов. В настоящее время существует множество их классификаций и способов применения. С позиций врача-клинициста можно выделить следующие группы воздействия на иммунную систему: заместительное лечение, в том числе цитокиноterapia и клеточно-тканевая терапия, иммуностимулирующая и иммунодепрессивная терапия.

При заместительной терапии большое значение имеет применение внутривенных иммуноглобулинов, свежезамороженной плазмы и цитокинов (интерлейкинов, интерферонов, колонестимулирующего фактора и пр.). Без этих препаратов невозможно представить ведение больных с иммунными нарушениями тяжелой степени. Вероятно, в ближайшее время к этому списку прибавятся и методы клеточно-тканевой терапии.

Группа иммуностимулирующих препаратов весьма разнообразна. Попытка разделить иммуностимуляторы по избирательности действия осложняется отсутствием селективности действия существующих препаратов. С практической точки зрения необходимо выделить следующие группы:

- бактериальные и вирусные вакцины, в основном обладающие профилактическим действием за счет формирования адаптивного иммунитета к конкретному возбудителю;
- препараты бактериального происхождения, в том числе лизаты и антигенные экстракты, фрагменты пептидогликана клеточной стенки и РНК, липополисахариды бактерий и их синтетические аналоги. Эффект этих препаратов связан со стимуляцией врожденного иммунитета и, в некоторых случаях, с формированием противобактериального адаптивного иммунитета.

Тимические и костномозговые иммунорегуляторные пептиды и их синтетические аналоги способны оказывать влияние на созревание «незрелых» клеток иммунной системы.

Аналогичным действием обладают иммунометаболические препараты. К этой группе относятся препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты, производные пурина и пиримидина, имидазола, полиэтиленперазина и аминофталгидразита. Наиболее интересным является производное аминофталгидразита – галавит. Помимо иммуностимулирующего действия он обладает выраженным противовоспалительным эффектом, что обуславливает широкое применение его при различных заболеваниях.

Следует выделить и отдельную группу индукторов синтеза интерферонов (амиксин, цитоферон, йодантипирин, неовир, кагоцел). Однако их эффективное применение возможно только после лабораторной оценки системы интерферонов.

Иммуносупрессивную терапию в зависимости от степени воздействия распределяют следующим образом:

- препараты, подавляющие иммунный ответ в целом (глюкокортикоиды, цитостатики, производные хинолина и др.);
- устраняющие реакции, сопровождающие иммунные процессы, обладающие противовоспалительным и частично иммунодепрессивным действием (нестероидные противовоспалительные средства, антигистаминные средства, стабилизаторы мембран тучных клеток);
- средства, оказывающие специфическое иммунодепрессивное действие (моноклональные антитела против лимфоцитов и цитокинов).

Большое значение в лечении больного с наличием иммунных нарушений принадлежит нормализации межклеточного взаимодействия. Это достигается детоксикационной терапией и улучшением реологии крови.

Помимо вышеописанных методов одним из важнейших направлений в лечении заболеваний, особенно при реабилитации больного, принадлежит нормализации и/или стимуляции работы непосредственно клетки – метаболическая терапия. К препаратам этой группы относится множество лекарственных средств. Многочисленные исследования, в том числе и с позиций доказательной медицины, показали их эффективность. Метаболическая терапия достаточно успешно используется в кардиологии и неврологии. Практикующие врачи эмпирически применяют его и при лечении иммуноопосредованных заболеваний. Однако в связи с большим числом данных лекарственных средств не отработаны четкие принципы применения таких препаратов при различных иммунных нарушениях. С учетом влияния на метаболизм клетки можно выделить следующие группы препаратов:

- 1) препараты, преимущественно влияющие на энергетические процессы клетки (энергетики);
- 2) средства, направленные на пластические реакции клетки (пластики);
- 3) средства, устраняющие продукты метаболизма в клетки (утилизаторы).

С позиций биохимических реакций в каждой группе необходимо выделить препараты, действующие на регуляцию какой-либо реакции (гормоны, ферменты и коферменты) и субстраты этой реакции (естественные метаболиты).

5.1. Препараты, преимущественно влияющие на энергетические процессы клетки

В эту группу входит большое количество водорастворимых витаминов, и естественных метаболитов.

5.1.1. Регуляторы энергетических процессов

Витамин В1 (тиамин) активно влияет на различные функции организма, вмешиваясь в обмен веществ и нервно-рефлекторную регуляцию. С помощью фермента тиаминпирофосфаткиназы тиамин в организме превращается в тиаминпирофосфат, который является кофактором окислительного дезаминирования α -кетокислот. Большое количество его содержится в дрожжах, зародышах и оболочках пшеницы, овса, гречихи, а также в хлебе, изготовленном из муки простого помола. Суточная потребность взрослого человека в витамине В1 составляет 1,5 – 2 мг.

Применяется с учетом суточной потребности витамина внутрь, внутримышечно, внутривенно, подкожно. Рекомендуется начинать парентеральное введение с малых доз (не более 0,5 мл 5 или 6% раствора) и только при хорошей переносимости вводить более высокие дозы. Внутримышечно (глубоко в мышцу), внутривенно (медленно), реже – подкожно. Взрослым назначают по 0,02 – 0,05 г тиамин хлорида (1 мл 2,5 или 5% раствора) или 0,03 – 0,06 г тиамин бромид (1 мл 3 или 6% раствора) 1 раз в день, ежедневно, переходя на прием внутрь, детям – по 0,0125 г тиамин хлорида (0,5 мл 2,5% раствора) или по 0,015 г тиамин бромид (0,5 мл 3% раствора). Курс лечения – 10–30 инъекций. Внутрь, после приема пищи, взрослым в профилактических целях – по 0,005–0,01 г/сут, в лечебных – по 0,01 г 1 – 5 раз в сутки, максимальная доза – 0,05 г/сут. Курс лечения – 30–40 дней. Детям в возрасте до 3 лет – 0,005 г через день; 3–8 лет – по 0,005 г 3 раза в день, через сутки. Курс лечения – 20–30 дней.

Противопоказания: гиперчувствительность, с осторожностью при энцефалопатии, в предклимактерический и климактерический период у женщин.

Возможные побочные реакции: крапивница, кожный зуд, ангионевротический отек, редко – анафилактический шок.

Чаще анафилактическая реакция развивается после внутривенного введения больших доз. При применении тиамин возможно повышенное потоотделение, тахикардия, болезненность (из-за низкого значения рН растворов) при подкожном, реже – при внутримышечном введении. Парентеральное введение рекомендовано только в том случае, если невозможен прием внутрь (тошнота, рвота, синдром мальабсорбции, предоперацион-

ные и/или послеоперационные состояния). Назначение декстрозы должно предшествовать приему тиамин.

Не рекомендуется одновременное парентеральное введение тиамин с пиридоксин или цианокобаламином. Пиридоксин затрудняет превращение тиамин в биологически активную форму. Цианокобаламин усиливает аллергизирующее действие тиамин. Не следует смешивать в одном шприце тиамин и никотиновую кислоту (тиамин разрушается). Тиамин ослабляет эффект деполяризующих миорелаксантов (суксаметония йодид и др.). Нельзя вводить внутривенно тиамин с растворами, содержащими натрия гидросульфит в качестве антиоксиданта. Этанол замедляет скорость всасывания тиамин после перорального приема.

Витамин В2 (рибофлавин). При поступлении в организм рибофлавин с помощью фермента рибофлавинкиназы превращается во флавиномононуклеотид, реакция которого с АТФ, катализируемая ФМН-аденилилтрансферазой, приводит к образованию флавинадениндинуклеотиду. Оба продукта являются коферментами оксидоредуктаз и участвуют в переносе протонов и регулировании окислительно-восстановительных процессов, этим обусловлена их роль в углеводном, белковом и жировом обмене.

Суточная потребность в витамине В2 для взрослого человека составляет 1,5 – 2 мг. В организме человека он поступает главным образом с мясными и молочными продуктами. Он широко распространен в растительном и животном мире и содержится в дрожжах, молочной сыворотке, яичном белке, мясе, рыбе, печени, горохе, зародышах и оболочках зерновых культур. Получен синтетически.

С терапевтической целью витамин В2 обычно применяется внутрь, реже внутримышечно. Внутрь: взрослым – 5 – 10 мг в сутки, в тяжелых случаях – 5 – 10 мг 3 раза в сутки, детям – 2 – 5 мг 1 раз в сутки. Длительность лечения – 1 – 1,5 мес. Внутримышечно: 1 мл 1% раствора (0,1 г) 1 раз в сутки в течение 10 – 15 дней (детям – 3 – 5 дней), затем 2 – 3 раза в неделю. Курс лечения – 15-20 инъекций. При заболеваниях глаз – 0,2-0,5 мл 1% раствора в течение 10 – 15 дней. При применении рибофлавин нельзя хранить в открытом месте, так как он разрушается под воздействием лучей солнца.

При совместном применении рибофлавин уменьшает активность доксициклина, тетрациклина, окситетрациклина, эритромицина и линкомицина. Не совместим со стрептомицином. Хлорпромазин, имипрамин, амитриптилин за счет блокады флавинокиназы нарушают включение рибофлавина в ФМН и ФАД и увеличивают его выведение с мочой. Этанол, трициклические антидепрессанты, фенотиазины, препараты, блокирующие канальцевую секрецию, снижают абсорбцию (требуют увеличения дозы рибофлавина). М-холиноблокаторы увеличивают всасывание и биодоступность (снижают перистальтику кишечника). Тиреоидные гормоны ускоря-

ют метаболизм. Витамин В2 уменьшает и предупреждает побочные эффекты хлорамфеникола (нарушение гемопоэза, неврит зрительного нерва). Совместим с лекарственными средствами, стимулирующими гемопоэз, антигипоксантами, анаболическими стероидами.

Противопоказания: гиперчувствительность. Изредка при применении возможно проявление крапивницы. Необходимо обратить внимание на то, что рибофлавин окрашивает мочу в светло-желтый цвет.

Витамин РР (никотиновая кислота) существует в виде никотиновой кислоты и никотиномида. Включается в простетическую группу ферментов, являющихся переносчиками водорода – НАД и НАДФ, регулирует окислительно-восстановительные процессы, тканевое дыхание, синтез белков и жиров, распад гликогена, угнетает липолиз в жировой ткани, уменьшает скорость синтеза липопротеидов низкой плотности, нормализует липидный состав крови: снижает уровень общего холестерина, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов и повышает уровень липопротеидов высокой плотности, обладает антиатерогенными свойствами.

Суточная потребность в никотиновой кислоте и никотинамиде составляет для взрослого человека около 20 мг, при тяжелом физическом труде – около 25, для детей в зависимости от возраста – от 6 до 18 мг. Продукты, богатые витамином РР, – говяжья печень, дрожжи, брокколи, морковь, сыр, кукурузная мука, финики, яйца, рыба, молоко, арахис, свинина, картофель, помидоры, проростки пшеницы, продукты из цельных злаков, травы – люцерна, корень лопуха, листья одуванчика, котовник кошачий, кайенский перец, ромашка, песчанка, очанка, семя фенхеля, пажитник сенной, женьшень, хмель, хвощ, коровяк, крапива, овес, петрушка, мята перечная, листья малины, красный клевер, плоды шиповника, шалфей, щавель.

С терапевтической целью витамин РР применяется подкожно, внутримышечно и внутривенно – 10 мг (1% раствор по 1 мл) 1–2 раза в день в течение 10–15 дней. Высшие дозы для взрослых: разовая – 0,1 г, суточная – 0,3 г. Внутривенное введение требует осторожности, необходимо вводить медленно. Менее эффективно применение внутрь (после еды). Для профилактики взрослым назначают 15–25 мг, детям – 5–20 мг/сут, при пеллагре соответственно – по 100 мг 2–4 раза в день, в течение 15–20 дней, детям – 12,5–50 мг 2–3 раза в день. Для профилактики гиповитаминоза РР наиболее предпочтительно сбалансированное питание. В процессе длительного лечения (особенно при назначении не в качестве витаминного лекарственного средства) необходимо контролировать функцию печени. Для предупреждения осложнений рекомендуется включать в диету продукты, богатые метионином (творог), или использовать метионин, липоевую кислоту и другие липотропные лекарственные средства.

Противопоказания: гиперчувствительность, выраженная артериальная гипертензия, атеросклероз, подагра, гиперурикемия, детский возраст

(до 2 лет). С осторожностью применять при геморрагиях, глаукоме, печеночной недостаточности, артериальной гипотензии, гиперацидном гастрите, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки (в стадии обострения).

При применении возможны кожная сыпь, кожный зуд, стридорозное дыхание, после внутривенного быстрого введения – ортостатическая гипотензия, коллапс, гиперемия кожи лица и верхней половины туловища, парестезии, головокружение, «приливы» крови к коже лица, головная боль, головокружение.

Местные реакции: болезненность в местах подкожного и внутримышечного введения.

Необходимо соблюдать осторожность при комбинировании с гипотензивными лекарственными средствами, антикоагулянтами и ацетилсалициловой кислотой.

Витамин С (аскорбиновая кислота) участвует в регуляции окислительно-восстановительных процессов, поскольку аскорбиновая кислота легко переходит в дегидроаскорбиновую и обратно, донируя или акцептируя два протона (окисляя или восстанавливая соответствующие субстраты). Аскорбиновая кислота, оказывая стимулирующее влияние на организм в целом, повышает его адаптационные возможности, резистентность к инфекциям. Дефицит витамина С приводит к отчетливому нарушению Т-системы иммунитета. Система же гуморального иммунитета более устойчива к С-витаминной недостаточности. Кроме дозы большое значение имеет характер сочетания витамина С с другими препаратами, например с витаминами группы В (В9 и В12). Стимуляция фагоцитоза связана с непосредственным влиянием витамина на фагоциты и зависит от дозы препарата. Полагают, что витамин С увеличивает чувствительность бактерий к лизоциму.

В обычных условиях суточная потребность взрослого человека в аскорбиновой кислоте составляет 70 – 100 мг. Аскорбиновая кислота содержится в значительных количествах в плодах шиповника, капусте, лимонах, апельсинах, хрене, ягодах, хвое и др. Небольшое содержание – в печени, мозгу, мышцах животных. При хранении продуктов (включая длительное замораживание, высушивание, соление, маринование), приготовлении пищи (особенно в медной посуде), измельчении овощей и фруктов в салатах, приготовлении пюре происходит частичное разрушение аскорбиновой кислоты (при температурной обработке – до 30–50 %).

Для медицинских целей витамин С получают синтетическим путем. Рекомендации по применению витамина С весьма противоречивы. Общетерапевтическая доза внутрь, после еды, для профилактики гиповитаминоза С: взрослым – 50–100 мг/сут, детям – 25–75 мг/сут. При беременности и лактации – 300 мг/сут в течение 10–15 дней, далее по 100 мг/сут: с лечебной целью: детям – по 50–100 мг 2–3 раза в день, взрослым – по 50–100 мг 3–5 раз в день в течение 2 нед. Назначают внутримышечно или внутривен-

но по 50–150 мг (1–3 мл 5% раствора), при отравлениях – до 3 г (60 мл). Максимальная разовая доза – 200 мг, суточная – 1 г; детям – 50–100 мг/сут. Однако имеются рекомендации по ежедневному приему витамина С в больших дозах (3–6 г/сут). При таких передозировках могут развиваться повышение возбудимости центральной нервной системы, бессонница, тошнота, рвота, диарея, гиперацидный гастрит, альтерация слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, угнетение функции инсулярного аппарата поджелудочной железы (гипергликемия, глюкозурия), гипероксалурия, невролитиаз (из кальция оксалата), повреждение гломерулярного аппарата почек, умеренная поллакиурия (при приеме дозы более 600 мг/сут.). Минимальная ежедневная потребность в аскорбиновой кислоте во II–III триместрах беременности – около 60 мг. Следует иметь в виду, что плод может адаптироваться к высоким дозам аскорбиновой кислоты, которую принимает беременная женщина, и затем у новорожденного возможно развитие синдрома «отмены». Минимальная ежедневная потребность в период грудного вскармливания – 80 мг. Диета матери, содержащая адекватное количество аскорбиновой кислоты, достаточна для профилактики дефицита у грудного ребенка. Теоретически существует опасность для ребенка при применении матерью высоких доз аскорбиновой кислоты (рекомендуется не превышать кормящей матерью максимума ежедневной потребности в аскорбиновой кислоте).

Противопоказан прием витамина С при гиперчувствительности. С осторожностью назначать при сахарном диабете, дефиците глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, гемохроматозе, сидеробластной анемии, талассемии, гипероксалурии, почечнокаменной болезни.

Аскорбиновая кислота повышает концентрацию в крови бензилпенициллина и тетрациклинов, в дозе 1 г/сут повышает биодоступность этинилэстрадиола (в том числе, входящего в состав пероральных контрацептивов), улучшает всасывание в кишечнике препаратов железа (переводит трехвалентное железо в двухвалентное), может повышать выведение железа при одновременном применении с дефероксамином, снижает эффективность гепарина и непрямых антикоагулянтов. Ацетилсалициловая кислота, пероральные контрацептивы, свежие соки и щелочное питье снижают всасывание и усвоение витамина С. При одновременном применении с ацетилсалициловой кислотой повышается выведение с мочой аскорбиновой кислоты и снижается выведение ацетилсалициловой кислоты. Ацетилсалициловая кислота снижает абсорбцию аскорбиновой кислоты примерно на 30 %, увеличивает риск развития кристаллурии при лечении салицилатами и сульфаниламидами короткого действия, замедляет выведение почками кислот, увеличивает выведение лекарственных средств, имеющих щелочную реакцию (в том числе, алкалоидов), снижает концентрацию в крови пероральных контрацептивов. Витамин С повышает общий клиренс этанола, который, в свою очередь, снижает концентрацию аскорбиновой

кислоты в организме. Лекарственные препараты хинолинового ряда, кальций, салицилаты, глюкокортикостероиды при длительном применении истощают запасы аскорбиновой кислоты. Витамин С при одновременном применении уменьшает хронотропное действие изопrenalина, в высоких дозах повышает выведение мексилетина почками. Барбитураты и примидон повышают выведение аскорбиновой кислоты с мочой. Витамин С уменьшает терапевтическое действие антипсихотических препаратов (нейролептиков) – производных фенотиазина, а также канальцевую реабсорбцию амфетамина и трициклических антидепрессантов.

В связи со стимулирующим действием аскорбиновой кислоты на синтез кортикостероидных гормонов необходимо следить за функцией почек и артериальным давлением. При длительном применении больших доз возможно угнетение функции инсулярного аппарата поджелудочной железы, поэтому в процессе лечения ее необходимо регулярно контролировать. У пациентов с повышенным содержанием железа в организме следует применять аскорбиновую кислоту в минимальных дозах.

5.1.2. Естественные метаболиты энергетических процессов

Декстроза (глюкоза) как субстрат обеспечивает энергетический обмен клеток всего организма. Глюкоза, поступая в ткани, фосфорилируется, превращаясь в глюкозо-6-фосфат, который активно включается во многие звенья обмена веществ организма, но прежде всего усиливает окислительно-восстановительные процессы. Изотонический 5% раствор глюкозы оказывает дезинтоксикационное, метаболическое действие, является источником ценного легкоусваиваемого питательного вещества. При метаболизме глюкозы в тканях выделяется значительное количество энергии, необходимой для жизнедеятельности организма. Помимо этого изотонический раствор восполняет объем потерянной жидкости, повышенная осмотическая активность гипертонических растворов увеличивает выход тканевой жидкости в сосудистое русло и удерживает ее в нем, повышает диурез и выведение токсических веществ. Вливание растворов глюкозы частично восполняет водный дефицит.

Гипертонический 10 % раствор глюкозы повышает осмотическое давление крови, улучшает обмен веществ; повышает сократимость миокарда; улучшает антитоксическую функцию печени, расширяет сосуды, увеличивает диурез.

Показания к применению. Назначается при гипогликемии, недостаточности углеводного питания, токсикоинфекции, интоксикациях при заболеваниях печени (гепатит, дистрофия и атрофия печени, в том числе печеночная недостаточность), геморрагическом диатезе, дегидратации (рвота, диарея, послеоперационный период), интоксикации, коллапсе, шо-

ке. Используется как компонент различных кровезамещающих и противошоковых жидкостей; для приготовления растворов лекарственных средств для в/в введения.

Способ применения и дозы. В/в капельно, 5 % раствор вводят с максимальной скоростью до 7 мл (150 кап)/мин (400 мл/ч); максимальная суточная доза для взрослых – 2000 мл; 10% раствор – до 60 кап/мин (3 мл/мин), максимальная суточная доза для взрослых – 1000 мл. В/в струйно – 10–50 мл 5 и 10% растворов.

У взрослых с нормальным обменом веществ суточная доза вводимой глюкозы не должна превышать 4–6 г/кг/сут, т.е. около 250–450 г/сут (при снижении интенсивности обмена веществ суточную дозу уменьшают до 200–300 г), при этом объем вводимой жидкости – 30–40 мл/кг/сут.

Детям для парентерального питания, наряду с жирами и аминокислотами, в первый день вводят 6 г глюкозы/кг/сут, в последующем – до 15 г/кг/сут. При расчете дозы глюкозы при введении 5 и 10% растворов нужно принимать во внимание допустимый объем вводимой жидкости: для детей с массой 2–10 кг – 100–165 мл/кг/сут, детям с массой 10–40 кг – 45–100 мл/кг/сут.

Скорость введения: при нормальном состоянии обмена веществ максимальная скорость введения для взрослых – 0,25–0,50 г/кг/ч (при снижении интенсивности обмена веществ скорость введения снижают до 0,125–0,25 г/кг/ч). У детей скорость введения глюкозы не должна превышать 0,5 г/кг/ч, что составляет для 5% раствора – около 10 мл/мин – 200 капель/мин (20 капель = 1 мл).

Для более полного усвоения глюкозы, вводимой в больших дозах, одновременно с ней назначают инсулин из расчета 1 ед. инсулина на 4–5 г глюкозы. Больным диабетом глюкозу вводят под контролем ее содержания в крови и моче.

Противопоказания: гипергликемия, сахарный диабет, гипергидратация, послеоперационные нарушения утилизации глюкозы; гипертоническая кома, гиперлактацидемия. С осторожностью при тяжелой сердечной недостаточности, отек легких, олигурии, анурии, гипонатриемии.

Возможное побочное действие: гипергликемия, лихорадка, гиперволемия, острая левожелудочковая недостаточность. В месте введения – развитие инфекции, тромбофлебит.

Янтарная и лимонная кислота являются одним из основных субстратов цикла Кребса, способствуют выработке АТФ, усиливают клеточное дыхание, способствуют усвоению кислорода клетками. За счет стимуляции окислительно-восстановительных реакций, процессов дыхания и синтеза АТФ способны активировать физиологические функции органов и тканей, тем самым улучшая адаптационные и компенсаторно-защитные возможности организма. Помимо этого под воздействием этих препаратов

усиливается секреция желудочного сока, образование соляной кислоты, повышается аппетит, уменьшается токсическое действие алкоголя.

Применяют в качестве средства для повышения неспецифической реактивности организма беременных женщин, улучшения его адаптационных и компенсаторно-защитных возможностей в целях профилактики осложнений при гипоксии, гипотрофии плода, при невынашивании беременности; для профилактики опьянения, при лечении острого алкогольного опьянения легкой и средней степени тяжести, для уменьшения токсического влияния алкоголя и постинтоксикационных расстройств, в комплексной терапии для лечения запойных состояний у больных с хроническим алкоголизмом, в период алкогольного абстинентного синдрома для комплексного лечения астеновегетативных расстройств (общая слабость, снижение работоспособности, аппетита); в качестве «пробного завтрака» при исследовании секреторной и кислотообразующей функции желудка.

При практическом применении оптимально использовать препарат лимонтар, в котором содержится 200 мг янтарной кислоты и 50 мг лимонной кислоты. Его применяют внутрь до еды: таблетку измельчают и растворяют в воде с питьевой содой (сода – на кончике ножа), для растворения можно использовать минеральную воду. Беременным лимонтар назначают по 1 таблетке в день в течение 10 дней в I триместре (на сроке беременности 12–14 недель) и во II (срок беременности 24–26 недель), в III триместре назначают за 10–25 дней до родов. Общая доза препарата за период беременности 5,0–7,5 г.

При назначении в качестве «пробного завтрака» для исследования секреторной и кислотообразующей функции желудка принимают внутрь, натощак 1 таблетку, предварительно растворив в 10–15 мл воды.

При появлении чувства тяжести в подложечной области лимонтар назначают после еды.

Противопоказания: при гиперчувствительности, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца (в т.ч. стенокардии), глаукоме, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, позднем гестозе (тяжелая форма).

Возможно появление болей в подложечной области (обычно эти явления проходят самостоятельно через 3–5 мин), повышенная секреция желудочного сока. У лиц, склонных к повышению артериального давления, после приема препарата может повышаться артериальное давление.

Широко получил распространения раствор для инфузий на основе янтарной кислоты – реамберин. В качестве антигипоксического и детоксицирующего средства при острых интоксикациях различной этиологии у детей и взрослых реамберин вводят в/в капельно со скоростью не более 90 кап/мин. Взрослым препарат вводят до 400–800 мл/сут. Детям в возрасте старше 1 года суточная доза препарата определяется из расчета 10 мг/кг массы тела. Скорость введения препарата и доза определяется в соответ-

ствии с состоянием пациента. Продолжительность курса введения препарата зависит от степени тяжести состояния пациента, но не должна превышать 11 дней.

Инозин (рибоксин, рибонозин). Нуклеозид – предшественник АТФ. Субстратно стимулирует синтез адениновых нуклеотидов, повышает активность некоторых ферментов цикла Кребса. Принимает непосредственное участие в обмене глюкозы и способствует активизации обмена при гипоксии и при отсутствии АТФ. Стимулирует окислительно-восстановительные процессы. Интенсифицирует метаболизм пировиноградной кислоты, нормализует процесс тканевого дыхания, способствует повышению активности ксантиндегидрогеназы. Оказывает положительное влияние на обменные процессы в миокарде, повышает его энергетический баланс, улучшает коронарное кровообращение, снижает агрегацию тромбоцитов, активирует регенерацию тканей.

Суточная доза при приеме внутрь составляет 0,6–2,4 г, в первые дни лечения она равна 0,6–0,8 г (по 0,2 г 3–4 раза в день). В случае хорошей переносимости ее повышают (на 2–3-й день) до 1,2 г, при необходимости – до 2,4 г/сут. Длительность лечения – от 4 нед до 1,5–3 мес. При урокопропорфирии суточная доза составляет 0,8 г (по 0,2 г 4 раза в день). В/в (медленно, струйно или капельно – 40–60 кап/мин): начинают с введения 200 мг (10 мл 2% раствора) 1 раз в день, при хорошей переносимости дозу увеличивают до 400 мг 1–2 раз в день. Продолжительность лечения – 10–15 дней. При острых нарушениях ритма и проводимости допустимо струйное введение в разовой дозе 200–400 мг. Для фармакологической защиты почек, подвергнутых ишемии, вводят в/в струйно, в разовой дозе 1,2 г (60 мл 2% раствора) за 5–15 мин до пережатия почечной артерии, а затем еще 0,8 г (40 мл 2% раствора) сразу после восстановления кровообращения. Для в/в капельного введения 2% раствор разводят в 5% растворе декстрозы или 0,9% растворе NaCl (до 250 мл).

5.1.3. Антигипоксанты

Предуктал обуславливает эффект действия повышением энергетического потенциала, активацией окислительного декарбоксилирования и рационализацией потребления кислорода (усиление аэробного гликолиза и блокада окисления жирных кислот). Предотвращает внутриклеточное истощение АТФ и фосфокреатинина. В условиях ацидоза нормализует функционирование ионных каналов мембран, нормализует внутриклеточную концентрацию K^+ , препятствует накоплению Ca^{2+} и Na^+ в кардиомиоцитах. Уменьшает внутриклеточный ацидоз и концентрацию фосфатов, обусловленных ишемией, ишемических повреждений миокарда выход креатинфосфокиназы из клеток. Останавливает повреждающее действие свобод-

ных радикалов, сохраняет целостность клеточных мембран, предотвращает активацию нейтрофилов в зоне ишемии, увеличивает продолжительность электрического потенциала. Препарат применяется внутрь, по 2 таблетки (70 мг) в день во время еды в 2 приема. Курс лечения – от 1 до 2 мес.

Левокарнитин (элькар, L-карнитин) – природное вещество, родственное витаминам группы В. Участвует в процессах обмена веществ в качестве переносчика длинноцепочечных жирных кислот (пальмитиновой и др.) из цитоплазмы в митохондрии, где эти кислоты подвергаются процессу β -окисления с образованием аденозинтрифосфорной кислоты и ацетил-КоА, что способствует дополнительному энергообеспечению тканей. Улучшает белковый и жировой обмен, повышает секрецию и ферментативную активность желудочного и кишечного соков, улучшает усвоение пищи, снижает избыточную массу тела и уменьшает содержание жира в мышцах. Повышает устойчивость к физическим нагрузкам, угнетает образование кетокислот и анаэробный гликолиз, уменьшает степень лактатацидоза, способствует экономному расходованию гликогена и увеличивает его запасы в печени и мышцах.

Применяется внутрь за 30 мин до еды, дополнительно разбавленный жидкостью; при длительных физических и психоэмоциональных нагрузках: от 0,75 г (1/2 мерной ложки или 2,5 мл) 3 раза в день до 2,25 г (1,5 мерной ложки, или 7,5 мл) 2–3 раза в день; при нервной анорексии, а также в период реабилитации после перенесённых заболеваний и хирургических вмешательств и травм: по 1,5 г (1 мерная ложка, или 5 мл) 2 раза в день. Курс лечения - в течение 1–2 мес; в комплексной терапии хронического гастрита и хронического панкреатита с пониженной секреторной функцией: по 0,375 г (1/4 мерной ложки, или 1,25 мл) 2 раза в день, курс лечения – в течение 1–1,5 мес; для лечения кожных заболеваний: по 0,75 г (1/2 мерной ложки, или 2,5 мл), курс лечения – в течение 2–4 недель; при гипертиреозе легкой степени: по 0,25 г (13 капель) 2–3 раза в день, курс лечения – 20 дней, его повторяют после 1–2 месячного перерыва или назначают в течение 3 мес без перерыва; при сосудистых, токсических и травматических поражениях головного мозга: по 0,75 г (1/2 мерной ложки, или 2,5 мл) в сутки, курс лечения – в течение 3–5 дней, при необходимости через 12–14 дней назначают повторный курс; при заболеваниях, сопровождающихся недостатком карнитина (первичная и вторичная карнитиновая недостаточность): до 50–100 мг/кг (2–5 капель/кг) массы тела с кратностью приёма 2–3 раза в день, курс лечения – в течение 3–4 мес. Детям назначают в виде добавки к сладким блюдам (кисель, компот, соки). Детям до 3 лет доза определяется лечащим врачом, от 3 до 6 лет – в разовой дозе 0,1 г (5 капель) 2–3 раза в день, в суточной дозе 0,2–0,3 г (11–16 капель), курс лечения – 1 мес; детям от 6 до 12 лет назначают в разовой дозе 0,2–0,3 г (11–16 капель) 2–3 раза в день, в суточной дозе 0,4–0,9 г (22–48 капель), курс лечения – не менее 1 мес; при задержке роста: по 0,25 г (13 капель) 2–3 раза в

день, курс лечения – 20 дней, его повторяют после 1–2 месячного перерыва или назначают в течение 3 мес без перерыва; в спортивной медицине и при интенсивных тренировках: по 2,5 г 1–3 раза в день (суточная доза 2,5–7,5 г); в случае использования с лечебной целью – 70–100 мг/кг/сут (5–7,5 г/сут), курсы приема: 3–4 недели в предсоревновательный период, в период тренировочного процесса – до 6–8 недель.

Цитохром С. Представляет собой высокомолекулярное железопорфириновое соединение, которое выделяют в виде очищенного кристаллического вещества, например из миокарда крупного рогатого скота. Представляет собой конъюгированный белок, по структуре близкий к гемоглобину, состоит из гема и одиночной пептидной цепи (апоцитохром С). Цитохром С играет важнейшую роль в биохимических окислительно-восстановительных процессах практически у всех аэробных организмов. Эти реакции происходят с участием двух митохондриальных ферментов: цитохромоксидазы и цитохромредуктазы. Гем проявляет свойства либо донора, либо акцептора электронов. Он обладает высокой химической активностью в отношении утилизации кислородных радикалов, таких как супероксид или перекись водорода, которая является сильным окислителем. Метаболиты гема действуют как "ловушки" для пероксидного радикала. Препарат быстро и полностью всасывается при любых путях введения. Хорошо проникает в клетки органов и тканей.

Милдронат – аналог бутиробетаина, подавляет γ -бутиробетаингидроксилазу, снижает синтез карнитина и транспорт длинноцепочечных жирных кислот через оболочки клеток, препятствует накоплению в клетках активированных форм неокисленных жирных кислот – производных ацилкарнитина и ацилкоэнзима А. В условиях ишемии восстанавливает равновесие процессов доставки кислорода и его потребления в клетках, предупреждает нарушение транспорта АТФ, одновременно с этим активирует гликолиз, который протекает без дополнительного потребления кислорода. В результате снижения концентрации карнитина усиленно синтезируется γ -бутиробетаин, обладающий вазодилатирующими свойствами.

5.2. Средства, направленные на стимуляцию пластических реакций клетки

В основе фармакологической регуляции пластических реакций клетки лежит стимуляция белкового синтеза, пролиферации и дифференцировки клеток. Для стимуляции этих процессов могут быть использованы различные группы лекарственных препаратов:

– регуляторы – витамины и анаболические гормоны;

– естественные метаболиты, в том числе препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты и ряда других синтетических иммуномодуляторов.

Как отдельную третью группу иммунометаболических средств, влияющих на клетки иммунной системы следует отнести индукторы интерферонов.

5.2.1. Регуляторы пластических процессов

Витамин В3 (пантотеновая кислота), в организме является субстратным (единственный незаменимый компонент) стимулятором синтеза кофермента А. Последний катализирует в организме ацилирование, участвует практически во всех метаболических процессах (цикл трикарбоновых кислот, обмен углеводов, жиров и жирных кислот, фосфолипидов, белков и др.), обеспечивает образование кортикостероидов, ацетилирование холина. Обладает противовоспалительным действием, стимулирует процессы репарации и регенерации.

Наиболее богаты витамином В3 мясо и субпродукты, пивные дрожжи, отруби, зародыши пшеницы, зеленые овощи, орехи, маточное молочко пчел. Витамин может синтезироваться кишечными бактериями, но в недостаточном количестве, учитывая суточную потребность организма: для детей и подростков 5 – 7 мг, для взрослых – 10 – 12 мг, хотя при лечении доза может быть увеличена в несколько раз.

Витамин В6 (пиридоксин) – это групповое название трех производных пиридина: пиридоксаля, пиридоксина и пиридоксамина. Пиридоксин, поступая в организм, фосфорилируется и в этой форме катализирует декарбоксилирование и переаминирование аминокислот.

Витамин В6 содержится в растениях и органах животных, особенно в неочищенных зернах злаковых культур, в овощах, мясе, рыбе, молоке, печени трески и крупного рогатого скота, яичном желтке, дрожжах. Суточная потребность взрослого человека составляет 2 мг и удовлетворяется частично продуктами питания, частично синтезом микрофлоры кишечника. Пиридоксин, поступая в организм, фосфорилируется и в этой форме катализирует декарбоксилирование и переаминирование аминокислот.

Суточная потребность в пиридоксине для взрослых 2–2,5 мг; для детей от 6 мес до 1 года – 0,5 мг, 1–1,5 года – 0,9 мг; 1,5–2 года – 1 мг; 3–4 года – 1,3 мг; 5–6 лет – 1,4 мг; 7–10 лет – 1,7 мг; 11–13 лет – 2 мг; для юношей 14–17 лет – 2,2 мг; для девушек 14–17 лет – 1,9 мг; для женщин – 2 мг и дополнительно при беременности 0,3 мг, при кормлении грудью – 0,5 мг.

С терапевтической целью пиридоксин принимается внутрь (после еды). Для профилактики гиповитаминоза В6 взрослым назначают по 2–5 мг/сут, детям – по 2 мг/сут, лечебные дозы для взрослых – 0,02–0,03 г 1–2

раза в день, для детей дозу уменьшают соответственно возрасту, курс лечения – 1–2 мес. Вводится парентерально (подкожно, внутримышечно или внутривенно), если прием внутрь невозможен (при рвоте) и при нарушении всасывания в кишечнике: взрослым – по 0,05–0,1 г/сут в 1–2 приема, детям – по 0,02 г, курс лечения для взрослых – 1 мес, для детей – 2 нед, при сопутствующей терапии изониазидом, фтивазидом – по 0,005–0,01 г/сут. Для лечения сидеробластной анемии назначают внутрь по 0,1 г ежедневно или 0,1 г внутримышечно 2 раза в неделю. Целесообразно одновременно принимать фолиевую кислоту, цианокобаламин, рибофлавин. При паркинсонизме вводят внутримышечно по 100 мг/сут, на курс – 20–25 инъекций, курс лечения повторяют через 2–3 мес, либо, начав с дозы 50–100 мг/сут, ежедневно увеличивают дозу на 50 мг, доводя ее до 300–400 мг/сут, в виде однократной инъекции в течение 12–15 дней; при депрессиях инволюционного возраста – внутримышечно по 200 мг/сут; для лечения пиридоксин-зависимого судорожного синдрома: взрослым – внутривенно или внутримышечно 30–600 мг, детям – 10–100 мг ежедневно.

Применение витамина B6 противопоказано при гиперчувствительности. Необходимо с осторожностью его назначать при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ишемической болезни сердца. При тяжелых поражениях печени пиридоксин в больших дозах может вызвать ухудшение ее функции, так же возможны крапивница, гиперсекреция желудочного сока, онемение, появление чувства сдавления в конечностях – симптом «чулок» и «перчаток», снижение лактации (иногда это используют как лечебный эффект); редко – судороги (возникают только при быстром введении).

Витамин B9 (фолиевая кислота) катализирует перенос одноуглеродистых фрагментов в синтезе пуринов и пиримидинов, т.е. обеспечивает для образования РНК и ДНК. При дефиците витамина B9 нарушается митотическое деление клеток, их созревание и функционирование.

Содержится в свежих овощах (бобах, шпинате, томатах и др.), а также в печени и почках животных. В организме человека, кроме того, синтезируется микрофлорой кишечника. Суточная потребность взрослых людей в фолиевой кислоте равна 200 мкг, беременных и кормящих женщин – 400 – 600 мкг, детей первого года жизни – 40 – 60 мкг. Для медицинских целей (в том числе, при интоксикации, вызванной противоопухолевыми препаратами) используют синтетическую фолиевую кислоту, хотя сама она неактивна и в организме восстанавливается до тетрагидрофолиевой, являющейся коферментом многих метаболических процессов.

Для профилактики гиповитаминоза B9 наиболее предпочтительно сбалансированное питание. С лечебной целью фолиевая кислота назначается внутрь взрослым – до 5 мг/сут в течение 20–30 дней, детям – в меньших дозах; для профилактики (исходя из суточной потребности) взрослым – 150–200 мкг/сут, детям до 3 лет – 25–50 мкг/сут, 4–6 лет – 75 мкг/сут, 7–

10 лет – 100 мкг/сут; в период беременности – по 400 мкг/сут, в период лактации – по 300 мкг/сут. Фолиевую кислоту не применяют для лечения В12-дефицитной (пернициозной), нормоцитарной и апластической анемии, а также анемии рефрактерной к терапии. При пернициозной (В12-дефицитной) анемии фолиевая кислота, улучшая гематологические показатели, маскирует неврологические осложнения. Пока не исключена пернициозная анемия, назначение фолиевой кислоты в дозах, превышающих 0,4 мг/сут, не рекомендуется (исключение – беременность и период лактации). Следует иметь в виду, что пациенты, находящиеся на гемодиализе, нуждаются в повышенных количествах фолиевой кислоты.

Противопоказания: гиперчувствительность, пернициозная анемия.

Возможные осложнения в виде развития кожной сыпи, кожного зуда, бронхоспазма, эритемах, гипертермии.

Фолиевая кислота снижает эффект фенитона (требуется увеличения его дозы). Анальгетики (длительная терапия), противосудорожные препараты (в том числе, фенитонин и карбамазепин), эстрогены, пероральные контрацептивы увеличивают потребность в фолиевой кислоте. Антациды (в том числе, препараты Ca^{2+} , Al^{3+} и Mg^{2+}), колестирамин, сульфонамины (в том числе, сульфасалазин) снижают абсорбцию фолиевой кислоты. Метотрексат, пириметамин, триамтерен, триметоприм ингибируют дигидрофолатредуктазу и снижают эффект фолиевой кислоты (вместо нее пациентам, применяющим эти препараты, следует назначать кальция фолинат). В отношении препаратов Zn^{2+} однозначная информация отсутствует: одни исследования показывают, что фолаты ингибируют абсорбцию Zn^{2+} , другие эти данные опровергают. Во время лечения антациды следует применять спустя 2 ч после приема фолиевой кислоты, колестирамин – за 4–6 ч до или спустя 1 ч после приема фолиевой кислоты. Следует иметь в виду, что антибиотики могут исказить (давать заведомо заниженные показатели) результаты микробиологической оценки концентрации фолиевой кислоты в плазме и эритроцитах. При применении больших доз фолиевой кислоты, а также терапии в течение длительного периода возможно снижение концентрации витамина В12.

Витамин В12 (цианокобаламин) – комплексное соединение, имеющее в основе цикл коррина и содержащее координационно связанный ион кобальта. В тканях животных не синтезируется. Витамин В12 в организме превращается в коферментные формы – метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин. Как кофермент участвует в различных метаболических процессах, включая метаболизм жиров и углеводов и синтез белка. Является фактором роста и стимулятором гемопоэза, оказывает благоприятное влияние на функции печени и нервной системы, активизирует процессы свертывания крови. Очевидна эффективность витамина В12 в нормальных дозах при крайне расстроенных гемопоэтических и иммунологических функциях (нарушение дифференцировки В-клеток, снижение числа плазм-

моцитов, АТ, лейкопения, мегалобластная анемия, рецидивирующая инфекция). Однако отмечается стимулирующее влияние витамина В12 на рост опухоли (в отличие от В1, В2, В6). Одно из основных иммуномоделирующих действий витамина В12 – влияние на обмен нуклеиновых кислот и белков.

Источниками витамина В12 служат различные виды мяса, рыба, яйца, молоко, сыр, но он полностью отсутствует в растительной пище. Витамин всасывается слизистой желудка только в присутствии секретируемого (эндогенного) гликопротеина, так называемого внутреннего фактора. Назначение этого мукопротеида заключается в связывании цианокобаламина и тем самым в защите от деградации. В крови В12 также связывается специальным белком – транскобаламином. Его синтез в природе осуществляется только микроорганизмами. Потребности человека и животных в нем обеспечиваются микрофлорой кишечника, откуда цианокобаламин поступает в органы, накапливаясь в наибольших количествах в почках, печени, стенке кишечника. Суточная потребность в этом витамине составляет 0,003 мг. Витамин В12 в организме превращается в коферментные формы – метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин.

Внутрь вводится подкожно, внутримышечно и внутривенно. При анемии Аддисона-Бирмера витамин назначают подкожно по 100–200 мкг/сут через день; при фуникулярном миелозе, макроцитарных анемиях с нарушением функции нервной системы – по 400–500 мкг/сут, в первую неделю – ежедневно, затем с интервалами между введениями до 5–7 дней (одновременно назначают фолиевую кислоту); в период ремиссии поддерживающая доза составляет 100 мкг/сут 2 раза в месяц; при наличии неврологических явлений – по 200–400 мкг 2–4 раза в месяц; при острой постгеморрагической и железодефицитной анемии – 30–100 мкг 2–3 раза в неделю; при апластической анемии – по 100 мкг до наступления клинико-гематологического улучшения; при нарушениях со стороны нервной системы – по 200–400 мкг 2–4 раза в месяц; при заболеваниях ЦНС и периферической нервной системы – по 200–500 мкг через день в течение 2 нед; при травмах периферической нервной системы – 200–400 мкг через день в течение 40–45 дней; при гепатитах и циррозах печени – 30–60 мкг/сут или 100 мкг через день в течение 25–40 дней; при лучевой болезни – по 60–100 мкг ежедневно в течение 20–30 дней; при фуникулярном миелозе, боковом амиотрофическом склерозе – эндолумбально по 15–30 мкг, с постепенным увеличением дозы до 200–250 мкг на инъекцию.

Для устранения дефицита витамина В12 вводят внутримышечно или внутривенно по 1 мг ежедневно в течение 1–2 нед; для профилактики – 1 мг 1 раз в месяц внутримышечно или внутривенно; детям раннего возраста при алиментарной анемии и недоношенным – подкожно 30 мкг в день ежедневно в течение 15 дней.

Дефицит витамина В12 должен быть подтвержден диагностически до назначения препарата, поскольку он может маскировать недостаток фолиевой кислоты. В период лечения необходимо контролировать показатели периферической крови: на 5–8-й день лечения определяются число ретикулоцитов, концентрация железа. При длительном применении количество эритроцитов, гемоглобин и цветной показатель необходимо контролировать в течение 1 мес 1–2 раза в неделю, а далее – 2–4 раза в месяц. Ремиссия достигается при повышении количества эритроцитов до $4\text{--}4,5 \times 10^{12}/\text{л}$, при достижении нормальных размеров эритроцитов, исчезновении анизо- и пойкилоцитоза, нормализации числа ретикулоцитов после ретикулоцитарного криза. После достижения гематологической ремиссии контроль периферической крови проводится не реже 1 раза в 4–6 мес.

При применении возможно развитие аллергических реакций, психического возбуждения, кардиалгии, тахикардии, диареи, головной боли, головокружения, при применении в высоких дозах – гиперкоагуляция, нарушение пуринового обмена.

Цианокабаламин несовместим с аскорбиновой кислотой, солями тяжелых металлов (инактивация цианокобаламина), тиамин бромидом, пиридоксином, рибофлавином (так как содержащийся в молекуле цианокобаламина ион кобальта разрушает другие витамины). Аминогликозиды, салицилаты, противоэпилептические препараты, колхицин, препараты K^+ снижают абсорбцию. Витамин В12 усиливает развитие аллергических реакций, вызванных тиамин. Хлорамфеникол снижает гемопоэтический ответ. Нельзя сочетать с препаратами, повышающими свертываемость крови. Существует риск развития аллергических реакций на фоне тиамин. Необходимо соблюдать осторожность у лиц, склонных к тромбообразованию, со стенокардией (в меньших дозах, до 0,1 мг на инъекцию). Рекомендуется принимать длительное время при пернициозной анемии, предстоящих операциях на желудочно-кишечном тракте.

При применении в рекомендуемых дозах в период беременности, кормления грудью, а также у пожилых людей побочных реакций, кроме вышеперечисленных, не отмечено.

Витамин U (S-метилметионин), активированная форма метионина. Является донатором метильных групп, необходимых для процессов синтеза в организме. Этим объясняется заживление повреждений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Метилируя гистамин, витамин U превращает его в неактивную форму, а это способствует уменьшению желудочной секреции, оказывает анальгезирующее действие.

Содержится в соке капусты, картофеля и других сырых овощах. Суточная потребность в витамине U не определена. Применяется внутрь, после еды, по 0,1 г 3–5 раз в сутки, в течение 30–40 дней.

Как побочные реакции описаны гиперчувствительность, кожные высыпания с зудом, тошнота, рвота.

Витамин А – его синтетические аналоги и гомологи относят к ретиноидам – производным ретиноевой кислоты. Биологически активными формами витамина А являются ретинол, ретиналь и сама ретиноевая кислота. Этот витамин содержится в продуктах животного происхождения – рыбьем жире, сливочном масле, яичном желтке, печени некоторых рыб (треска, морской окунь и др.) и морских животных (кит, морж, тюлень). В растительных пищевых продуктах ретинол не встречается. Однако многие из них (морковь, шпинат, салат, петрушка, зеленый лук, щавель, красный перец, черная смородина, черника, крыжовник, персики, абрикосы и др.) содержат каротин, представляющий собой провитамин А, из которого в организме образуется ретинол. Витамин А регулирует процессы ороговения, обеспечивает секретцию сальных желез, необходим для нормального роста волос, поддержания иммунитета, участвует в противоопухолевой защите организма.

Внутрь принимают в профилактических и лечебных целях (через 10–15 мин после еды), при необходимости (тяжелое течение, нарушение всасывания в желудочно-кишечном тракте) – внутримышечно (в виде масляных растворов). Растворы для инъекций подогревают перед введением до температуры тела. В случаях, требующих длительного лечения (заболевания кожи, глаз), курсы внутримышечных инъекций можно чередовать с приемом внутрь. При авитаминозах легкой и средней степени взрослым – 33 тыс. МЕ/сут; при гемералопии, ксерофтальмии – 50–100 тыс. МЕ/сут; детям – 1–5 тыс. МЕ/сут, в зависимости от возраста; при заболеваниях кожи взрослым – 50–100 тыс. МЕ/сут; детям – 5–20 тыс. МЕ/сут. Для лечения угревой сыпи требуются высокие дозы витамина А, что увеличивает риск токсических осложнений, поэтому при этой нозологии во избежание развития гипервитаминоза А наиболее предпочтительны местные формы витамина А (в том числе, третиноин или изотретиноин). Суточная потребность в витамине А для взрослого человека – 5 тыс. МЕ (1,5 мг); для беременных – 6,6 тыс. МЕ (2 мг); для кормящих женщин – 8,25 тыс. МЕ (2,5 мг); детям до 1 года – 1,65 тыс. МЕ (0,5 мг); 1–6 лет – 3,3 тыс. МЕ (1 мг); 7–14 лет – 5 тыс. МЕ (1,5 мг). В условиях Крайнего Севера дозы для беременных, кормящих женщин и детей повышаются на 50 %.

При применении ретинола возможны передозировки. Острые передозировки (развиваются через 6 ч после введения): сонливость, вялость, двоение в глазах, головокружение, сильная головная боль, тошнота, тяжелая рвота, диарея, раздражительность, остеопороз, кровотечение из десен, сухость и изъязвление слизистой оболочки полости рта, шелушение губ, кожи (особенно ладоней), спутанность сознания, повышение внутричерепного давления (у детей грудного возраста – гидроцефалия, выпячивание родничка).

К симптомам хронической интоксикации относятся потеря аппетита, боль в костях, трещины и сухость кожи, губ, сухость слизистой оболочки

полости рта, гастралгия, рвота, гипертермия, астения, необычайная утомляемость, дискомфорт, головная боль, фоточувствительность, поллакиурия, никтурия, полиурия, раздражительность, выпадение волос, желто-оранжевые пятна на подошвах, ладонях, в области носогубного треугольника, гепатотоксические явления, внутриглазная гипертензия, олигоменорея, портальная гипертензия, гемолитическая анемия, изменения на рентгенограммах костей, судороги, фетотоксические явления (пороки развития мочевыводящей системы, задержка роста, раннее закрытие эпифизарных зон роста). Лечение: отмена препарата, симптоматическая терапия.

Противопоказания: гиперчувствительность, гипервитаминоз А. С осторожностью назначать витамин при алкоголизме, циррозе печени, вирусных гепатитах, почечной недостаточности, беременности (особенно I триместр), в период лактации, в пожилом и детском возрасте.

При взаимодействии ретинол ослабляет эффект препаратов Ca^{2+} , увеличивает риск развития гиперкальциемии. Колестирамин, колестипол, минеральные масла, неомицин уменьшают абсорбцию витамина А (может потребоваться повышение его дозы). Пероральные контрацептивы увеличивают концентрацию витамина А в плазме. Изотретиноин увеличивает риск возникновения токсического эффекта. Одновременное применение тетрациклина и витамина А в высоких дозах (50 тыс. ЕД и выше) увеличивают риск развития внутричерепной гипертензии. Витамин Е снижает токсичность, абсорбцию, депонирование в печени и использование витамина А. Высокие дозы витамина Е могут снизить запасы витамина А в организме.

Витамин D. В настоящее время называют два жирорастворимых, близких по химическому строению и действию вещества – эргокальциферол (витамин D2) и колекальциферол (витамин D3). Основное свойство этих соединений – способность предупреждать и лечить рахит, в связи с чем их иногда называют противорахитическими витаминами. Витамин D2 в небольшом количестве содержится в пищевых продуктах: яичном желтке, сливочном масле, сыре, молоке, икре, жирных сортах рыбы (угорь, лосось, макрель, сардины), устрицах, печени трески, говяжьей печени, хлебе из зерен крупного помола. Витамин D3 образуется в коже человека под воздействием солнечных лучей. За 25 мин пребывания на солнце организм синтезирует до 2000 МЕ витамина D. Более того, в этом случае невозможно «превысить дозу». По биологической активности витамины D2 и D3 практически не различаются, поскольку в организме оба, вероятно, превращаются в кальцитриол – активный метаболит витамина D. Считается что нужно потреблять ежедневно 50 – 200 мг витамина D, а после 50 лет дозу необходимо удвоить (1 мг витамина D равен 40 МЕ).

Основным свойством витамина D является его участие в метаболизме кальция. В настоящее время витамин рассматривают не только как витамин, но и как гормон, регулирующий вместе с гормоном парашитовид-

ной железы концентрацию ионов кальция в плазме крови, в том числе всасывание кальция в пищеварительном тракте, отложение его в костях, препятствуя резорбции из костной ткани. Витамин D регулирует также содержание фосфора в организме. Применяют его для профилактики и лечения рахита и заболеваний костей, вызванных нарушениями обмена кальция (остеомалация и некоторые формы остеопороза). В последнее время доказано иммуностропное действие витамина D. Терапия высокими дозами витамина D эффективна в предотвращении активации латентных форм туберкулеза и для профилактики рака.

Суточная потребность в витамине D3 для взрослых составляет 400 МЕ (10 мкг). Применять необходимо под тщательным медицинским контролем концентрации Ca^{2+} в крови и моче (особенно при сочетании с тиазидными диуретиками). В качестве препарата кальциферол применяется внутрь или внутримышечно, для профилактики рахита – в дозе 200 тыс. МЕ (5 мг) 1 раз в 6 мес (до 5 лет). Если ребенок редко находится на солнце или его кожа гиперемирована, разовую дозу увеличивают до 400 тыс. МЕ, вводят также 1 раз в полгода (до 5 лет). При лечении рахита, спазмофилии и гипокальциемии доза витамина составляет 200 тыс. МЕ 1 раз в неделю в течение 2 нед (в сочетании с препаратами Ca^{2+}); для предупреждения приступов тетании – до 1 млн МЕ/сут; при остеомалации и остеопорозе – 200 тыс. МЕ каждые 15 дней в течение 3 мес.

Для детей витамин назначают в виде капель для приема внутрь (1 капля приблизительно соответствует 500 МЕ). Для профилактики рахита детям грудного возраста (доношенным) со 2-й недели жизни витамин назначают ежедневно по 500 МЕ/сут, в особых случаях (например, недоношенным детям) – до 1000 МЕ/сут; при недоношенности I степени – 1000–2000 МЕ/сут; при недоношенности II и III степени (исключая летние месяцы) и для лечения рахита – по 2000–5000 МЕ/сут в 2–3 приема в течение 1–1,5 мес. Затем переходят на поддерживающую терапию (500 МЕ/сут) в течение 2 лет и в зимний период на 3-м году жизни.

Доза 5000 МЕ назначается только при выраженных костных изменениях. Через 3 мес после окончания 1-го курса детям из группы риска проводят повторный курс противорецидивного лечения по 2000–5000 МЕ/сут в течение 3–4 нед, за исключением летних месяцев; грудным детям, страдающим спазмофилией, – по 5000 МЕ 3 раза в сутки; взрослым для профилактики остеомалации – по 500–1000 МЕ 3 раза в сутки, для лечения остеомалации – до 2500 МЕ 3 раза в сутки; при гипопаратиреозе и псевдогипопаратиреозе витамин назначают по 7500–15000 МЕ/сут. При этом нужен контроль концентрации Ca^{2+} в крови каждые 3–6 мес и при необходимости – коррекция режима дозирования. При профилактическом применении необходимо иметь в виду возможность передозировки, особенно у детей (не следует назначать более 10–15 мг в год).

Противопоказания: гиперчувствительность, гиперкальциемия, гипервитаминоз D, почечная остео дистрофия с гиперфосфатемией. С осторожностью назначают при атеросклерозе, саркоидозе или других гранулематозах, хронической сердечной недостаточности, нефроуролитиазе в анамнезе, гиперфосфатемии, хронической почечной недостаточности, беременности, в период лактации, в детском возрасте.

Возможные побочные реакции: кожные высыпания, кожный зуд, гиперкальциемия, гиперкальциурия, снижение аппетита, полиурия, запоры, головная боль, миалгия, артралгия, повышение артериального давления, аритмии, нарушение функции почек, обострение туберкулезного процесса в легких.

Возможна передозировка. Симптомы гипервитаминоза витамина D: ранние (обусловленные гиперкальциемией) – запор или диарея, сухость слизистой оболочки полости рта, головная боль, жажда, поллакиурия, никтурия, полиурия, анорексия, металлический привкус во рту, тошнота, рвота, необычайная усталость, общая слабость, гиперкальциемия, гиперкальциурия; поздние – боль в костях, помутнение мочи (появление в моче гиалиновых цилиндров, протеинурии, лейкоцитурии), повышение артериального давления, кожный зуд, фоточувствительность глаз, гиперемия конъюнктивы, аритмия, сонливость, миалгия, тошнота, рвота, панкреатит, гастралгия, похудание.

Симптомы хронической интоксикации витамином D (при приеме в течение нескольких недель или месяцев для взрослых в дозах 20–60 тыс. МЕ/сут, детей – 2–4 тыс. МЕ/сут):

- кальциноз мягких тканей, почек, легких, кровеносных сосудов;
- артериальная гипертензия;
- почечная и сердечно-сосудистая недостаточность вплоть до смертельного исхода (эти эффекты наиболее часто возникают при присоединении к гиперкальциемии гиперфосфатемии);
- нарушение роста у детей (длительный прием в дозе 1,8 тыс. МЕ/сут).

Лечение гипервитаминоза D включает отмену препарата, диету с низким содержанием Ca^{2+} , большое количество потребления жидкости, назначение глюкокортикостероидов, токоферола, аскорбиновой кислоты, ретинола, тиамин; в тяжелых случаях – внутривенное введение больших количеств 0,9 % раствора NaCl, фуросемида, электролитов, проведение гемодиализа.

Продолжительное применение витамина в высоких дозах приводит к хроническому гипервитаминозу D3. Следует иметь в виду, что чувствительность к витамину D у разных пациентов индивидуальна, и у ряда пациентов прием даже терапевтических доз может вызвать явления гипервитаминоза. Чувствительность новорожденных к витамину D может быть различной. Некоторые из них могут быть чувствительными даже к очень низким дозам. У детей, получающих витамин D в течение длительного пе-

риода времени, повышается риск возникновения задержки роста. Для профилактики гиповитаминоза D наиболее предпочтительно сбалансированное питание. Новорожденные, находящиеся на грудном вскармливании, особенно рожденные матерями с темной кожей и/или получавшие недостаточную инсоляцию, имеют высокий риск возникновения дефицита витамина D. В экспериментах на животных показано, что кальцитриол в дозах, в 4–15 раз превышающих рекомендуемые дозы для человека, обладает тератогенным эффектом.

Гиперкальциемия у матери, связанная с длительной передозировкой витамина D во время беременности, может вызвать у плода повышение чувствительности к витамину D, подавление функции паращитовидной железы, синдром специфической эльфоподобной внешности, задержку умственного развития, аортальный стеноз. В пожилом возрасте потребность в витамине D может возрасти вследствие уменьшения абсорбции витамина D, снижения способности кожи синтезировать провитамин D₃, уменьшения времени инсоляции, возрастания частоты возникновения почечной недостаточности.

Токсическое действие кальциферола ослабляют витамин A, токоферол, аскорбиновая кислота, пантотеновая кислота, тиамин, рибофлавин. При гипервитаминозе D возможно усиление действия сердечных гликозидов и повышение риска возникновения аритмии, обусловленные развитием гиперкальциемии (целесообразна коррекция дозы сердечного гликозида). Под влиянием барбитуратов (в том числе, фенобарбитала), фенитоина и примидона потребность в колекальцифероле может значительно повышаться (увеличивают скорость метаболизма). Длительная терапия на фоне одновременного применения витамина D с Al³⁺- и Mg²⁺-содержащими антацидами увеличивает их концентрацию в крови и риск возникновения интоксикации (особенно при наличии хронической почечной недостаточности). Кальцитонин, производные этидроновой и памидроновой кислот, пликамицин, галлия нитрат и глюкокортикостероиды снижают эффект. Колестирамин, колестипол и минеральные масла снижают абсорбцию в желудочно-кишечном тракте жирорастворимых витаминов и требуют повышения их дозировки. Витамин D увеличивает абсорбцию фосфорсодержащих препаратов и риск возникновения гиперфосфатемии. При одновременном применении с натрия фторидом интервал между приемом должен составлять не менее 2 ч, с пероральными формами тетрациклинов – не менее 3 ч, с другими аналогами витамина D повышается риск развития гипервитаминоза.

5.2.2. Естественные метаболиты

К этой группе относят аминокислоты, препараты предшественников пуриновых или пиримидиновых оснований или продукты частичного гидролиза нуклеиновых кислот.

Оротовая кислота является одним из предшественников пиримидиновых нуклеотидов, входящих в состав нуклеиновых кислот, которые участвуют в синтезе белковых молекул, в связи с чем соли оротовой кислоты рассматриваются как вещества анаболического действия и применяются при нарушениях белкового обмена, для их стимуляции. Обычно применяют калиевую соль оротовой кислоты (калия оротат). Она стимулирует синтез нуклеиновых кислот, продукцию альбумина в печени (особенно в условиях длительной гипоксии), повышает аппетит, обладает диуретическим, регенерирующим свойствами.

Принимают внутрь за 1 ч до еды или через 4 ч после еды. Взрослым назначают по 250–500 мг 2–3 раза в сутки. Курс лечения длится в среднем 20–30 дней. При необходимости лечение можно повторить через 1 мес. В исключительных случаях можно увеличить дозу взрослых до 3 г в сутки. Детям рекомендуется по 10–20 мг/кг массы тела в сутки, дозу разделить на 3–4 приема (например, если масса тела ребенка 25 кг, то разрешенная доза – от $25 \times 10 = 250$ мг (1/2 таблетки) до $25 \times 20 = 500$ мг (1 таблетка в сутки, разделенная на 3–4 приема). Курс лечения 3–5 нед.

Калия оротат хорошо переносится. В отдельных случаях могут возникать аллергические кожные реакции, которые исчезают после прерывания лечения. Калия оротат может также вызвать легкие расстройства пищеварения (тошнота, рвота). При применении в высоких дозах на фоне малобелковой диеты возможно развитие дистрофии печени. Противопоказания к назначению: повышенная чувствительность к любому из компонентов препарата, острое и хроническое органическое поражение печени, асцит.

Метионин (гептрал, адеметионин) – незаменимая аминокислота, регулирующая азотистый баланс. S-аденозил-метионина входит в состав всех тканей и жидких сред организма, участвует в большинстве биологических реакций, в том числе как донор метиловой группы – в процессе метилирования в составе липидного слоя клеточной мембраны (трансметилирование); как предшественник эндогенных тиоловых соединений – цистеина, таурина, глутатиона, коэнзима А (транссульфирование); как предшественник полиаминов – путресцина, стимулирующего регенерацию клеток, пролиферацию гепатоцитов, спермидина, спермина, входящих в структуру рибосом (аминопропилирование). Восполняет дефицит адеметионина и стимулирует его выработку в организме, в первую очередь в печени и мозге. Повышает содержание глутамина в печени, цистеина и таурина в плазме, снижает содержание метионина в сыворотке крови, норма-

лизуя метаболические реакции в печени. После декарбоксилирования участвует в процессах аминопропилирования как предшественник полиаминов – путресцина (стимулятор регенерации клеток и пролиферации гепатоцитов), спермидина и спермина, входящих в структуру рибосом; незаменимая аминокислота, регулирующая азотистый баланс. Содержит подвижную метильную группу и участвует в процессах метилирования, обеспечивающих синтез холина, адреналина, креатина и других биологически важных соединений, обезвреживание токсичных продуктов, образование фосфолипидов. Тормозит отложение в печени нейтрального жира, оказывает липотропный эффект (удаляет из печени избытки жира). Модулирует эффект гормонов и витаминов (В12, аскорбиновой и фолиевой кислот).

Таурин (дибикор, тауфон) – аминокислота, образующаяся в организме в процессе превращения цистеина. Играет большую роль в липидном обмене, способствует нормализации функции клеточных мембран, оптимизации обменных процессов, сохранению электролитного состава цитоплазмы (за счет накопления ионов калия и кальция), входит в состав парных желчных кислот (таурохолиевой, тауродезоксихолевой), способствующих эмульгированию жиров в кишечнике. В головном мозге выполняет функцию нейромедиатора, тормозящего синаптическую передачу, обладает противосудорожной и кардиотонической активностью. Вызывает нормализацию метаболизма глазных тканей при заболеваниях дистрофического характера.

Препараты дезоксирибонуклеиновой кислоты включают препараты нуклеиновых кислот животного (деринат, ферровир и пр.) и грибкового происхождения (нуклеинат натрия). К этой же группе следует отнести производные пиримидина и пурина. Одним из старейших иммуноактивных препаратов, проверенных временем, является **натрия нуклеинат**, обладающий широким спектром биологической активности. Он способствует ускорению процессов регенерации, активизирует деятельность костного мозга и лейкопоз, вызывает лейкоцитарную реакцию, увеличивает количество Т-лимфоцитов; стимулирует миграцию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарную активность макрофагов и факторов неспецифической резистентности, процессы клеточного деления и дифференцировки; усиливает синтез нуклеиновых кислот в лимфоцитах, повышает накопление цАМФ в лимфоцитах и функциональную активность неспецифических факторов защиты. Нуклеинат натрия увеличивает содержание РНК и белка в макрофагах в 1,5 раза и гликогена в 1,6 раза, активность лизосомальных ферментов, следовательно, завершает фагоцитоз макрофагами. Препарат повышает содержание у человека лизоцима и нормальных АТ, если их уровень был снижен.

Деринат – препарат, в качестве биологически активного вещества, которого выступает дезоксирибонуклеат натрия, полученный из вытяжки

молок осетровых рыб. Активирует процессы клеточного и гуморального иммунитета, оптимизирует воспалительную реакцию и специфический иммунный ответ на бактериальные, грибковые, вирусные АГ, активизирует В-лимфоциты, Т-хелперы, повышает фагоцитоз. Снижает чувствительность клеток к повреждению химиотерапевтическими препаратами и радиотерапией, что сопровождается понижением кардио- и миелотоксического действия у онкологических больных и приводит к повышению стабильности и результативности терапевтического эффекта повторных курсов лечения. Деринат обладает высокими репаративными и регенеративными свойствами, стимулирует дренажно-детоксикационную функцию лимфатической системы, в первую очередь в очаге воспалительной реакции, нормализует состояние органов и тканей при дистрофиях сосудистого происхождения. Увеличивает толерантность к физической нагрузке, снимает боль в икроножных мышцах, способствует заживлению различного типа гангренозных трофических инфицированных ран и глубоких ожогов и эрадикации *Helicobacter pylori* при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, улучшает сократимость миокарда, микроциркуляцию в сердечной мышце, восстанавливает функцию миоцитов, стимулирует заживление язв ЖКТ.

Ферровир – комплекс дезоксирибонуклеат натрия с железом. Представляет собой биологически активное вещество из вытяжки молок осетровых рыб (очищенная и стандартизованная комплексная соль дезоксирибонуклеат натрия с железом). Препарат оказывает иммуномодулирующее и противовирусное действие, активизирует противовирусный, противогрибковый и противомикробный иммунитет, проявляет противовирусное действие и к РНК- и ДНК-содержащим вирусам. Курсовое применение ферровира при комплексной терапии ВИЧ-инфекции повышает уровень CD4⁺-лимфоцитов в крови на 1–1,5 мес. При рецидивирующей герпетической инфекции сокращается продолжительность рецидива и наступает длительная ремиссия. Применение этого препарата больными хроническим гепатитом С способствует снижению репликативной активности HCV и переводит процесс в латентную фазу.

Полидан, действующим веществом, у которого является высокоочищенная стандартизованная смесь натриевых солей полихлоргидратов дериватов ДНК и РНК, получаемая из молок осетровых рыб, – нуклеоспермат натрия. Оказывает влияние на процессы пролиферации, миграции и дифференцировки КОЕ, ускоряет гранулоцитопоз на стадии промиелоцитов и миелоцитов, увеличивает индекс созревания нейтрофилов, является стимулятором кроветворения непрямого действия. Также полидан может активизировать деятельность гемопоэза, повышать продукцию эндогенных КСФ, действуя посредством микроокружения, индуцирующего кроветворение, способствовать увеличению уровня тромбоцитов, восстанавливать гематологические показатели, сниженные в результате химиоте-

рапии. Это вещество уменьшает степень иммуносупрессии после химиотерапии, увеличивая содержание CD4⁺-клеток, повышает их долю в соотношении CD4⁺/CD8⁺, сохраняя высокую пролиферативную активность Т-лимфоцитов. Значительно снижает активность супероксиддисмутазы и уровень малонового диальдегида, проявляя умеренную антиоксидантную активность, принимает участие в клеточном метаболизме, встраиваясь в клеточные структуры, оказывает иммуномодулирующее действие (активирует клетки-киллеры, стимулирует антителообразование).

Производные пириимидина и пурина. В качестве средств, повышающих резистентность организма к инфекциям, с каждым годом все шире применяются производные пириимидина и пурина. Производные пириимидина интересны тем, что обладают низкой токсичностью, активизируют деятельность белкового и нуклеинового обмена, ускоряют клеточный рост и размножение, вызывают противовоспалительные действия, способны предупреждать снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, которое наступает под влиянием антибиотиков, вызывать индукцию синтеза ИФН, увеличивать уровень иммунизации и уровень нормальных антител. Механизм действия как стимуляторов иммуногенеза, по-видимому, связан с включением их в белковый и нуклеиновый обмен, вызывающий поливалентное влияние на иммуногенез и процессы регенерации.

Метилурацил – как стимулятор лейкопоеза препарат назначают при агранулоцитарной ангине, алиментарно-токсической алейкии, хроническом бензольном отравлении, лейкопении в результате химиотерапии злокачественных новообразований, при рентгено- и радиотерапии и других состояниях, сопровождающихся лейкопенией. Необходимо учитывать, что метилурацил целесообразно назначать при легких формах лейкопении. При поражениях средней тяжести применение стимуляторов кроветворения показано лишь в случае возобновлений нарушенной регенерации кровяных клеток. При тяжелых поражениях кроветворной системы метилурацил запрещен.

Пентоксил по фармакологическим свойствам сходен с метилурацилом. Применяют как стимулятор лейкопоеза при тех же показаниях, что метилурацил. Имеются данные о благоприятном действии пентоксила у больных с трофическими язвами, ожогами, свищами, переломами костей, а также о его терапевтической эффективности при язвенной болезни желудка и хроническом панкреатите. Рекомендуются также больным с инфекционно-воспалительными заболеваниями органов дыхания, протекающими с нейтропенией и угнетением фагоцитоза. Обладая раздражающим действием, пентоксил при приеме внутрь может вызывать диспепсические явления, местно препарат не применяют.

Изопринозин – активное вещество инозин пранобекса увеличивает суммарное число Т-лимфоцитов и выработку ими ИЛ-2, активирует функцию НК-клеток и Т-хелперов, стимулирует хемотаксическую и фагоцитар-

ную активность моноцитов, макрофагов (повышает в них синтез ИЛ-1) и полиморфноядерных клеток. Усиливает синтез РНК и рибосомального белка, одновременно препятствуя использованию рибосомальной РНК для размножения вируса.

5.2.3. Индукторы синтеза интерферонов

Среди иммуномодуляторов особое место занимают индукторы выработки эндогенного ИФН, группа которых разнородна по составу. Выделяют синтетические препараты (амиксин, циклоферон, полудан, неовир, амплиген) и природные соединения (кагоцел, панавир, рогасин, саврац). Клинические испытания показали широкий диапазон их иммуномодулирующей и противовирусной активности. Многие авторы эти препараты рассматривают как противовирусные средства. Индукторы ИФН являются препаратами с комбинированным эффектом: этиотропным, направленным непосредственно на вирус, и иммуномодулирующим, т.е. корригирующим нарушения системы иммунитета. Эти индукторы индуцируют синтез всех иммунологических классов ИФН: α , β и γ в разных пропорциях. Все они хорошо сочетаются друг с другом – рекомбинантными ИФН, иммуномодуляторами и химиотерапевтическими средствами. Комбинированное применение с другими препаратами часто приводит к потенцированию эффектов индукторов ИФН.

Индукторы ИФН имеют ряд преимуществ перед рекомбинантными ИФН, а именно:

- индукторы ИФН не обладают антигенностью;
- естественный, но стимулированный синтез эндогенного ИФН не вызывает гиперинтерферонэмии, которая нередко возникает при использовании рекомбинантных ИФН, что, в свою очередь, приводит к побочным эффектам, т.е. отсутствуют симптомы передозировки;
- однократное введение индукторов ИФН обеспечивает их длительную циркуляцию на терапевтическом уровне. Для достижения такого уровня экзогенных ИФН требуется многократное введение высоких доз рекомбинантных ИФН;
- рекомбинантные ИФН, принимая участие в иммунных реакциях организма, стимулируют неспецифическую цитотоксичность иммуноцитов и вызывают экспрессию молекул HLA в тех популяциях клеток, которые обычно не экспрессируют эти АГ. Это может быть причиной усугубления аутоиммунного ответа организма человека;
- широко применяемые рекомбинантные ИФН являются препаратами ИФН- α , что существенно ограничивает их противовирусные свойства, так как для эффективной противовирусной защиты необходимо наличие

всех трех классов ИФН, синтез которых вызывается индукторами интерфероногенеза;

– индукторы ИФН дешевле препаратов ИФН.

Эффективность индукторов выработки ИФН показана при ряде вирусных заболеваний: амиксин – при герпетической инфекции, гриппе, ОРВИ, гепатитах, энцефалите; кагоцел – при гриппе, ОРВИ, герпесе; неовир – при герпетической инфекции, ОРВИ; полудан – при герпетической инфекции; ридостин – при гриппе, ОРВИ, бешенстве; рогасин – при гепатите А, В; соврац – при ОРВИ, гепатите А, энтеровирусных инфекциях.

Амиксин (лавомакс, тилорон) – известный отечественный препарат, является первым пероральным индуктором эндогенных ИФН- α , β , γ . Он наиболее полно сочетает в себе все преимущества индукторов ИФН. Представляя собой поликлональный стимулятор, амиксин вызывает синтез ИФН в Т-лимфоцитах, энтероцитах кишечника, гепатоцитах, проникает через гематоэнцефалический барьер и индуцирует ИФН в клетках мозга. Стимулирует СК костного мозга, в зависимости от дозы усиливает антителообразование, уменьшает степень иммунодепрессии, восстанавливает соотношение $CD4^+/CD8^+$. Эффективен против различных вирусных инфекций, в том числе против вирусов гриппа, других острых респираторных вирусных инфекций, вирусов гепатита и герпеса. У него отсутствуют мутагенный, тератогенный, эмбриотоксический, канцерогенный и другие токсические эффекты. Препарат не обладает антигенностью. Важная особенность амиксина — вызываемая им длительная циркуляция в организме терапевтической концентрации ИФН (50—100 ЕД/мл в сыворотке крови).

Неовир – низкомолекулярный синтетический супериндуктор ИФН. Представляет собой производное карбоксиметилакридона с молекулярной массой менее 300. Повышает способность клеток-интерферонопродукторов вырабатывать ИФН при индукции патологическим агентом (свойство сохраняется длительное время после отмены препарата) и создает в организме высокие титры эндогенных ИФН, идентифицированных как ранний ИФН- α и β ; активирует СК костного мозга, устраняет дисбаланс в субпопуляциях Т-лимфоцитов с активацией эффекторных звеньев Т-клеточного иммунитета и макрофагов; на фоне опухолевых заболеваний усиливает активность натуральных киллеров, которая обусловлена продукцией ИЛ-2, и нормализует синтез ФНО; стимулирует активность полиморфноядерных лейкоцитов (миграция, цитотоксичность, фагоцитоз); оказывает противовирусное (в отношении РНК- и ДНК-геномных вирусов) и антихламидийное действия.

Циклоферон – метилглюкаминовая соль карбоксиметилакридона, представляющая собой синтетический аналог природного алкалоида из культур *Citrus Grandis*, обладает пролонгированным противовирусным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действиями; стимулирует продукцию ИФН- α , β , γ (до 60-80 ЕД/мл и выше) лейкоцитами, мак-

рофагами, Т- и В-лимфоцитами, эпителиальными клетками, а также тканями селезенки, печени, легких, мозга; проникает в цитоплазму и ядерные структуры, индуцирует синтез «ранних» ИФН; активизирует Т-лимфоциты и естественные киллерные клетки; способствует коррекции иммунного статуса при иммунодефицитных состояниях различного генеза, в том числе ВИЧ; активен в отношении вирусов клещевого энцефалита, гриппа, гепатита, герпеса, ЦМВ, ВИЧ, различных энтеровирусов, хламидий; проявляет высокую эффективность при ревматических и других системных заболеваниях соединительной ткани, подавляя аутоиммунные реакции и оказывая противовоспалительное и обезболивающее действие; отличается низкой токсичностью и отсутствием мутагенных, тератогенных, эмбриотоксических и канцерогенных эффектов, обладает пролонгированным иммуномодулирующим действием. Препарат хорошо сочетается с традиционными средствами терапии.

Арбидол – активное вещество, которое оказывает противовирусное и иммуномодулирующее действия. Специфически угнетает вирусы гриппа А и В, тяжелого острого респираторного синдрома; препятствует контакту и проникновению вирусов в клетку, подавляя слияние липидной оболочки вируса с клеточными мембранами; обладает интерферон-индуцирующим действием, стимулирует гуморальные и клеточные реакции иммунитета, фагоцитарную функцию макрофагов, повышает устойчивость организма к вирусным инфекциям; уменьшает частоту развития осложнений, связанных с вирусной инфекцией, а также обострений хронических бактериальных заболеваний. Терапевтическая эффективность при вирусных инфекциях проявляется в снижении выраженности общей интоксикации и клинических явлений, сокращении продолжительности болезни. Относится к малотоксичным препаратам, не оказывает какого-либо отрицательного воздействия на организм человека при пероральном применении в рекомендуемых дозах.

Полудан (полиаденур) – синтетический индуктор ИФН, состоящий из двухнитевого комплекса полиадениловой и полиуридиновой кислот. Он обладает иммуномодулирующим действием, индуцируя образование эндогенного ИФН- α и - β . Показано применение полудана при гепатите В, герпетических кератитах и кератоконъюнктивитах.

Кагоцел. Гетероцепный полимер молекулярной массой 120–130 кД, получаемый путем химического синтеза из растительного сырья – водорастворимой карбоксиметилцеллюлозы и госсипола. Последний представляет собой природный полифенол специфический пигмент хлопчатника. Кагоцел индуцирует продукцию ИФН и способствует образованию в организме человека так называемого позднего интерферона, являющегося смесью ИФН- α и ИФН- β , обладающих высокой противовирусной активностью; стимулирует продукцию физиологических количеств ИФН- γ . Вызывает продукцию ИФН практически во всех популяциях клеток, принима-

ющих участие в противовирусном ответе организма: Т- и В-лимфоцитах, макрофагах, гранулоцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках.

5.3. Средства, устраняющие продукты метаболизма клетки

В эту группу препаратов входят средства, способствующие утилизации продуктов метаболизма клетки, антиоксиданты и стабилизаторы мембран.

5.3.1. Средства, способствующие утилизации продуктов метаболизма

Витамин B15 (пангамовая кислота) – широко представлен в семенах растений, в связи с этим и получил свое название – пангамовая кислота (от греч. pan – всюду и gamu – семя). Наибольшее содержание пангамовой кислоты обнаружено в семенах злаковых растений и в ядрах косточковых плодов, а также в большом количестве содержится в печени, почках, яичном желтке, икре рыб, горохе, рисе, дрожжах, отрубях. Суточная потребность – 2 мг в сутки. Пангамовая кислота активизирует окислительные процессы, уменьшает явления гипоксии, оказывает детоксицирующее действие, улучшает липидный обмен, участвует в образовании холина, увеличивает содержание гликогена и креатинфосфата в мышцах, является донором метильных групп.

Глутаминовая кислота – заменимая аминокислота поступает в организм с пищей, а также синтезируется в организме при переаминировании в процессе катаболизма белков. Участвует в белковом и углеводном обмене; стимулирует окислительные процессы; препятствует снижению окислительно-восстановительного потенциала; повышает устойчивость организма к гипоксии; принимает в норму обмен веществ, изменяя функциональное состояние нервной и эндокринной систем; принимает участие в синтезе других аминокислот, ацетилхолина, АТФ; способствует переносу ионов калия, улучшает деятельность скелетной мускулатуры (является одним из компонентов миофибрилл); оказывает дезинтоксикационное действие; способствует обезвреживанию и выведению из организма аммиака; нормализует процессы гликолиза в тканях, оказывает гепатопротекторное действие; угнетает секреторную функцию желудка.

Глутоксим (глутамил-цистинил-глицин динатрия) играет важную роль в регуляции метаболических процессов в клетках и тканях. Он оказывает селективное воздействие на сульфгидрильные группы поверхностно-клеточных и растворимых рецепторов, что приводит к восстановлению их функционально активной конформации, чувствительности к регуляторным и транспортным молекулам пептидной природы; определяет иммуномоду-

лирующий и цитотропные эффекты препарата; способствует реализации действия регуляторных молекул пептидной природы на нормальные (регуляция метаболических процессов) и трансформированные (индукция апоптоза) клетки; стимулирует каскадные механизмы фосфатной модификации ключевых белков сигналпередающих систем; инициацию действия системы цитокинов, в том числе ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, TNF, ИФН, эритропоэтина.

Галавит (аминодигидрофталазиндион натрия) – препарат, активным компонентом которого является производное фталгидразида. За счет субстратной стимуляции активизирует анаэробное клеточное дыхание, при этом активизирует глутатионзависимую антиоксидантную систему, т.е. осуществляет антиоксидантное действие; при этом снижает влияние вредных воздействий активных форм кислорода на окружающие клетки. Выявлено, что за счет активация метаболических процессов в нейтрофильных гранулоцитах и лимфоцитах с выраженной антиоксидантной активностью происходит повышение уровня выживаемости клеток в культуре, т.е. галавит усиливает продолжительность жизни клеток в неблагоприятных условиях. Помимо этого он действует на моноцитарно-макрофагальное звено иммунитета: регулирует синтез цитокинов макрофагами (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α и др.) и лимфоцитами (ИЛ-2), стимулирует бактерицидную активность нейтрофилов, усиливает фагоцитоз и неспецифическую защиту организма; повышает бактерицидную активность нейтрофильных гранулоцитов и неспецифическую резистентность организма к инфекционным заболеваниям, регулирует пролиферативную функцию Т-лимфоцитов, пролиферативную активность естественных киллеров (НК-клеток) и синтез АТ; обладает антиоксидантным и антидиарейным действием; регулирует репарацию тканей, уменьшает образование рубцов при заживлении, стимулирует синтез ИФН.

Натрия тиосульфат оказывает дезинтоксикационное, противовоспалительное, десенсибилизирующее действие.

Унитиол способствует дезинтоксикационному действию. Увеличивает выведение некоторых катионов (особенно Cu^{2+} и Zn^{2+}) из металлосодержащих ферментов клеток. Активные сульфгидрильные группы восстанавливают функции ферментных систем организма.

Как способ утилизации продуктов метаболизма, особенно хронических ее форм, можно стимулировать биотрансформации. Биотрансформация токсических веществ – один из важнейших путей естественной детоксикации организма. При этом может произойти повышение активности индукции ферментов, главным образом в микросомах печени, ответственных за метаболизм токсичных соединений, или снижение активности этих метаболитов (ингибция), влекущее за собой замедление метаболизма. В клинической практике используются препараты – индукторы или ингибиторы ферментов, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков с целью

снижения их токсического действия. В настоящее время известно более 200 веществ, способных влиять на активность микросомальных ферментов (цитохром Р-450). Наиболее изученными индукторами являются барбитураты, в частности фенобарбитал или бензонал, и специальный препарат – зиксорин. Под влиянием этих препаратов в митохондриях печени увеличиваются уровень и активность цитохрома Р-450, что обусловлено стимуляцией процессов их синтеза. Лечебное действие проявляется не сразу, а спустя 1,5 – 2 сут. В качестве ингибиторов ферментативной активности предложены ниаламид (ингибитор моноаминоксидазы), левомицетин, тетраам и т.д. Однако их клиническое применение показано только при отравлении.

5.3.2. Антиоксиданты

Протекающие в организме процессы биологического окисления состоят из последовательных реакций дегидрирования, при которых атомы водорода переходят от субстрата (жирные кислоты, углеводы) к акцептору. Кислород вовлекается в тканевое дыхание в завершающей цитохромоксидной реакции, соединяясь с акцептированными атомами водорода. Биологическое окисление структурно организовано в клетке, строго регулируется, ступенчато освобождает макроэнергии и в конечной стадии образует нетоксичные продукты (H_2O и CO_2). Наряду с биологическим окислением в организме могут происходить реакции прямого присоединения кислорода к субстрату – аутоокисление. Обычно они начинаются с образования частиц с неспаренным электроном – свободными радикалами, образуя промежуточные соединения – перекиси. Соответственно эти процессы называют свободнорадикальным, или перекисным окислением. Свободнорадикальное окисление развивается как цепной лавинообразный процесс, вовлекающий все новые молекулы субстрата. Усиление свободнорадикального окисления в организме наблюдается при многих заболеваниях.

Общими признаками являются: повышение гидрофильности мембран и как следствие – увеличение их проницаемости, разобщение дыхания и фосфорилирования, нарушение связи фосфолипидов со структурными и рецепторными белками клеточных мембран, повреждение нуклеиновых кислот и инактивация ферментов, лизис мембран лизосом, сопровождающийся выходом из них фосфолипаз и других гидролитических ферментов, способных вызвать аутолиз клетки.

Свободнорадикальные механизмы угнетают клеточный и гуморальный иммунитет. Развитие этого окисления может быть прекращено ингибиторами, восстанавливающими свободные радикалы в стабильную молекулярную форму, не способную продолжать цепь аутоокисления.

Лекарственное влияние реализуется либо непосредственным связыванием свободных радикалов – так действуют прямые антиоксиданты, либо через активацию антиоксидантной системы организма – группа непрямых антиоксидантов. Можно выделить основные принципы их применения:

- приоритетное использование природных биоантиоксидантов, полностью лишенных побочных эффектов;
- учет алиментарного фактора. В зимне-весенний период обязательно назначение прямых антиоксидантов, летом и осенью при высоком содержании в рационе овощей и фруктов предпочтительны антиоксиданты непрямого действия;
- комбинированное применение. Процессы свободнорадикального окисления могут развиваться как в липидной, так и в водной фазе клеточных и неклеточных структур. Соответственно необходимо одновременное введение липидорастворимых и гидрофильных антиоксидантов;
- адекватный выбор дозировки препаратов. Дозирование антиоксидантов должно базироваться на учете не только массы тела, но и возраста человека, характера его питания;
- достаточно продолжительный курс фармакопрофилактики или фармакотерапии, который определяется длительностью воздействия фактора или ситуации, способствующих усилению свободнорадикального окисления (от 1 – 2 нед до 2 – 3 мес).

Классическим антиоксидантом является *витамин Е*. Под этим названием известен ряд соединений (токоферолов), близких по химической природе и биологическому действию. Наиболее активен из них α -токоферол, который является наиболее активными и, возможно, главным природным жирорастворимым антиоксидантом, благодаря чему обеспечивает стабильность биологических мембран клеток организма. Токоферол регулирует интенсивность свободно радикальных реакций в живых клетках, препятствуя развитию цепных неуправляемых реакций пероксидного окисления ненасыщенных липидов в биологических мембранах. Он разрушает наиболее реактивные формы кислорода и таким образом предохраняет от окисления полиненасыщенные жирные кислоты. Токоферолы содержатся в зеленых частях растений, особенно в молодых ростках злаков, также богаты ими растительные масла (подсолнечное, хлопковое, кукурузное, арахисовое, соевое, облепиховое). Некоторое количество их содержится в мясе, жире, яйцах, молоке. Потребность в витамине Е составляет 8 – 10 МЕ для взрослых и 3 – 7 МЕ для детей (в зависимости от возраста). Витамин Е является эндогенным противоокислительным фактором (антиоксидантом), тормозящим перекисное окисление липидов клеточных мембран. Участвует в биосинтезе белков, в тканевом дыхании, пролиферации клеток и других важнейших процессах.

Согласно нормам среднего суточного потребления, потребность в витамине Е для детей 1–6 лет составляет 5–7 мг, 7–17 лет – 10–15 мг, мужчин и женщин – 10 мг, для беременных и кормящих матерей – 10–14 мг. Назначают внутрь или внутримышечно. При профилактике гиповитаминоза Е взрослым мужчинам назначают 10 мг/сут, женщинам – 8 мг/сут, беременным – 10 мг/сут, кормящим матерям – 11–12 мг/сут, детям до 3 лет – 3–6 мг/сут, 4–10 лет – 7 мг/сут. Длительность лечения гиповитаминоза Е индивидуальна и зависит от тяжести состояния. Парентерально (подогрев до 37° С) вводят в тех же дозах, что и назначают внутрь ежедневно или через день. Следует иметь в виду, что у новорожденных с низкой массой тела возможно возникновение гиповитаминоза Е в связи с низкой проницаемостью плаценты (в крови плода содержится лишь 20–30% витамина Е от его концентрации в крови матери). Диета с повышенным содержанием селена и серосодержащих аминокислот снижает потребность в витамине Е.

Применение витамина Е противопоказано при гиперчувствительности, с осторожностью назначают при гипопротромбинемии (на фоне дефицита витамина К – может усиливаться при дозе витамина Е более 400 МЕ). При рутинном назначении витамина Е новорожденным следует сопоставлять пользу с потенциальным риском возникновения некротического энтероколита; при применении возможны аллергические реакции; при внутримышечном введении – болезненность, инфильтрат, кальцификация мягких тканей.

Симптомы, связанные с приемом витамина в течение длительного периода в дозах 400–800 ЕД/сут (1 мг = 1,21 МЕ): нечеткость зрительного восприятия, головокружение, головная боль, тошнота, необычайная усталость, диарея, гастралгия; астения.

Симптомы, которые могут развиваться при приеме более 800 ЕД/сут в течение длительного периода: увеличение риска развития кровотечений у больных с гиповитаминозом К, нарушение метаболизма тиреоидных гормонов, расстройство сексуальной функции, тромбофлебит и тромбоемболия, некротический колит, сепсис, гепатомегалия, гипербилирубинемия, почечная недостаточность, кровоизлияние в сетчатую оболочку глаза, геморрагический инсульт, асцит.

Лечение: симптоматическое, отмена препарата, назначение глюкокортикостероидов.

Витамин Е усиливает эффект глюкокортикостероидов, нестероидных противовоспалительных препаратов, антиоксидантов. Увеличивает эффективность и уменьшает токсичность витаминов А, D, сердечных гликозидов. Назначение витамина Е в высоких дозах может вызвать дефицит витамина А в организме. Повышает эффективность противоэпилептических препаратов у больных эпилепсией, у которых повышено содержание в крови продуктов ПОЛ. Одновременное применение витамина Е в дозе более 400 ЕД/сут с антикоагулянтами (производными кумарина и индандио-

на) повышает риск развития гипопротромбинемии и кровотечений. Колестирамин, колестипол, ми-неральные масла снижают всасывание. Высокие дозы железа усиливают окислительные процессы в организме, что повышает потребность в витамине Е.

Высокой антиоксидантной активностью обладают **дибунол и пробукол** – препараты с широким спектром биологических свойств. В зависимости от дозы они способны подавлять биосинтез белка за счет включения торможения аминокислот и ингибирования синтеза РНК, повышать активность оксигеназ печени, стимулируя биотрансформации многих соединений, ускорять регенерацию тканей, интенсифицируя вступление клеток в фазу синтеза ДНК и повышая активность РНК-полимераз.

Многие биофлавоноиды (**витамин Р**) имеют выраженные антиоксидантные свойства за счет прямого антирадикального действия. Это растительные биофлавоноиды, представляющие собой группу биологически активных веществ (рутин, катехины, кверцетин, цитрин, гесперидин, эриодиктиол, цианидин). Всего известно около 150 биофлавоноидов, обладающих сходными биологическими действиями. Витамин Р находится обычно в тех же растительных продуктах, в которых встречается и аскорбиновая кислота. Особенно много его содержится в цитрусовых, черной смородине, плодах шиповника, щавеле, зеленом чае, салате. В гречихе, белой оболочке под кожурой цитрусовых, немного меньше – в помидорах, винограде, капусте, петрушке, сливах, яблоках, ягодах. Данный витамин не вырабатывается нашим организмом и поэтому должен быть включен в ежедневный рацион питания. Суточная потребность взрослого человека в рутине – 30 мг, кверцетине – 15, гесперидине – 100 мг. Витамин Р – эффективный антиоксидант, способный восстанавливать клеточную структуру, в основе действия которого лежит свойство перехватывать свободные радикалы кислорода и обезвреживать их. Являясь мощными природными антиоксидантами, биофлавоноиды предохраняют клетки нашего организма от разрушительного воздействия свободных радикалов, предотвращая старение организма, нарушения иммунитета, возникновение различных заболеваний. Традиционно считается, что биофлавоноиды обладают капилляроукрепляющим свойством: нормализуют и поддерживают структуру, эластичность, функцию и проницаемость кровеносных сосудов, предупреждают их склеротическое поражение, снижают проницаемость стенок сосудов, препятствуют выработке гистамина и серотонина.

Существенный интерес вызывает и их способность оказывать сберегающий эффект в отношении **аскорбиновой кислоты**.

Прямое антирадикальное действие оказывает **эмоксипин**. Он эффективен при быстром и чрезмерном нарастании свободнорадикальных процессов, например при острой лучевой болезни, при воздействии света высокой интенсивности (ретинопротекторное действие) и т.д. Побочных эффектов обычно не дает.

Глутатион – глутамилцистеинглицин как трипептид при приеме внутрь гидролизуется на составляющие аминокислоты. Предшественниками глутатиона являются метионин и глутаминовая кислота. В последние годы вместо метионина используется его более активная форма – метилметионинсульфоний. Все указанные соединения проявляют антиоксидантное действие и оказывают нормализующий эффект в отношении показателей липидного обмена.

5.3.3. Стабилизаторы мембран

Тиоктовая кислота (берлитион, липоевая кислота, α -липоевая кислота, октолипен, тиоктацид, тиогама) – эндогенный антиоксидант (связывает свободные радикалы), в организме образуется при окислительном декарбоксилировании α -кетокислот. В качестве коэнзима митохондриальных мультиферментных комплексов участвует в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты и α -кетокислот. Способствует снижению концентрации глюкозы в крови и увеличению гликогена в печени, а также преодолению инсулинорезистентности. По характеру биохимического действия препарат близок к витаминам группы В. Участвует в регулировании липидного и углеводного обмена, стимулирует обмен холестерина, улучшает функцию печени. Оказывает гепатопротекторное, гипополипидемическое, гипохолестеринемическое, гипогликемическое действия. Улучшает трофику нейронов. Использование трометамоловой соли тиоктовой кислоты в растворах для в/в введения (имеющей нейтральную реакцию) позволяет уменьшить выраженность побочных реакций.

Эссенциале – эссенциальные фосфолипиды, которые представляют собой высоко очищенную фракцию фосфатидилхолина. По своей химической структуре подобны эндогенным мембранным фосфолипидам, превосходя их по своим функциональным свойствам за счет высокого содержания в них полиненасыщенных жирных кислот, особенно липоевой кислоты. Фосфолипиды являются основными структурными элементами клеточных мембран и органел. Они принимают участие в дифференциации, размножении и регенерации клеток. Функциональное значение основывается на их амфифильных свойствах, которые позволяют регулировать проницаемость клеточной оболочки. Улучшают функцию мембран, в частности ионный обмен, процесс внутриклеточного дыхания, биологического окисления, влияют на связывание ферментов внутриклеточного дыхания в митохондриях, а также на процесс окислительного фосфорилирования в энергетическом обмене клеток. В физиологических условиях синтез фосфолипидов удовлетворяет нормальные потребности гепатоцитов, которые содержат достаточное количество фосфолипидов. Эссенциале является универсальным стабилизатором мембран. Известно, что структура клеточ-

ных мембран, функция ферментных систем при заболеваниях печени и биосинтез фосфолипидов, дефицит которых приводит к изменению функции клеточной мембраны, нарушаются. Эссенциале Форте устраняет указанные нарушения, способствует регенерации клеточных мембран, реактивирует мембраносвязанные ферментные системы и рецепторы, повышает детоксикационную способность печени и таким образом нормализует ее функцию. Кроме того, эссенциале представляют как индуктор иммуномодулирующих свойств эритроцитов, так как эритроциты, обработанные эссенциале стимулируют развитие иммунного ответа на Т-зависимые АГ, но не влияют на выраженность иммунного ответа, индуцированного Т-независимыми АГ.

Целесообразно применение и других стабилизаторов мембран – **ксидифона, димефосфона**. Ксидифон – мембраностабилизирующий препарат, обладающий способностью “включаться” в структуры липидного слоя мембран, способствуя образованию фосфолипидов, менее проницаемых для биологически активных веществ (75 – 100 мг/кг массы в сутки, в зависимости от возраста – в виде 2 % раствора 3 раза в день в течение месяца). Полиненасыщенные фосфолипиды, внедряясь в наружный слой мембраны, оказывает влияние на содержание ненасыщенных жирнокислотных радикалов, обладают антиоксидантными свойствами и могут оказывать влияние на структуру мембраны за счет снижения интенсивности постоянно протекающих процессов перекисного окисления липидов мембраны.

Таким образом, лечение больных с нарушениями функции иммунной системы будет эффективно только тогда, когда будут выполнены все вышеуказанные мероприятия.

5.4. Детоксикационная (эфферентная) терапия

Детоксикационная (эфферентная) терапия (от лат. *efferens* – выводить) — метод лечения, направленный на выведение из организма токсических и балластных веществ, метаболитов.

Эндогенная интоксикация, свойственная большинству заболеваний, представляет собой основную точку приложения эфферентных методов. Влияние эфферентной терапии на патологические процессы не исчерпывается прямой детоксикацией. При некоторых состояниях целью применения таких методов лечения является необходимость коррекции иммунологических нарушений (путем выведения избытка ЦИК, клеток иммунной системы, аутоантител). Практическое значение имеет также возможность направленной коррекции белкового и водно-электролитного состава крови.

Детоксикация – это комплекс лечебных мероприятий, проводимых с целью прекращения воздействия токсичных веществ и их удаления из организма. Достижению этой цели служат большое число методов, направ-

ленных на стимуляцию естественной детоксикации, а также проведение искусственная и антидотная дезинтоксикационная терапия.

В клинической практике методы детоксикации проводятся либо путем стимуляции естественной детоксикации либо активной искусственной (эфферентная терапия).

Можно выделить следующие виды детоксикации:

- стимуляция естественных процессов выведения — очищение ЖКТ, форсированный диурез;
- неинвазивные методы эфферентной терапии;
- инвазивные методы эфферентной терапии.

Как способ дезинтоксикации возможно также рассматривать описанные выше методы стимуляции биотрансформации – регуляция ферментативной функции гепатоцитов за счет фармакологической или физико-химической индукции или ингибиции и стимуляция активности иммунной системы – фармакологическая коррекция – физиогемотерапия.

К методам, направленным на усиление физиологической детоксикации, относятся очищение ЖКТ, форсированный диурез, регуляция активности ферментов, создание гипер- или гипотермии и др. При их проведении используются рвотные и слабительные средства, препараты, обеспечивающие водно-электролитную нагрузку, осмотические диуретики и салуретики. Следует отметить, что стимуляция естественных механизмов детоксикации возможна только при условии сохранения функции элиминирующих систем организма.

5.4.1. Стимуляция выведения токсинов

Очищение желудочно-кишечного тракта – пищеварительная система поставляет питательные вещества и удаляет отработанные элементы, если в работе органов пищеварения происходят какие-то нарушения, сбои в работе других органов и систем. Одна из причин дисфункции пищеварительной системы связана с нарушением вывода продуктов обмена веществ и накоплением их в организме, что приводит к хронической эндогенной интоксикации. Прежде всего, при очищении кишечника большое значение имеет диета. Список запрещенных продуктов включает жирное мясо и мясопродукты, копчености, белый хлеб и кондитерские изделия, макаронные изделия и крупы (кроме овсяной), жирное цельное молоко, творог, сахар, алкоголь. Обязательное условие: принимать не менее 2–3 л жидкости в день, а на ночь выпивать стакан любого кисломолочного продукта (кефир, йогурт, ряженка).

Большое значение имеет очищение кишечника и печени. Промывание кишечника через задний проход – постановка клизмы – один из древнейших способов очищения. В настоящее время арсенал промывания через

задний проход весьма широк – от микроклизм с введением небольших объемов обычно лекарственных веществ до сифонных клизм и промывания желудка с помощью специальной аппаратуры (гидроколонотерапия).

Достаточно эффективное средство для очищения и промывания желчных протоков – слепой тюбаж. Процедура помогает избавиться от застоя желчи и как следствие способствует выделению продуктов обмена веществ. Наиболее простой вид слепого тюбажа – с помощью минеральной воды. Процедуру лучше проводить рано утром, перед этим натощак (не едят минимум 6 ч) выпивают 250–300 мл минеральной воды, обладающей желчегонным действием (Ессентуки № 4). Предварительно из воды нужно выпустить все газы и подогреть до 36–38 °С, затем положить на область печени теплую грелку и лечь на правый бок. Воду в грелке нужно также обновлять. Необходимо допить минеральную воду (200–250 мл). Общая продолжительность процедуры 1,5–2 ч, эффектом будет разжиженный стул с зеленоватым оттенком. Помимо минеральной воды можно использовать раствор сернокислой магнезии (1 чайная ложка на стакан воды), мед (1 столовая ложка на стакан воды), яблочный сок, овсяный отвар, растительное масло с лимонным соком.

При детоксикации достаточно широко применяются внутривенные введения растворов. Однако при этом необходимо учитывать распределение воды в организме, изменения других жидкостей и электролитов. Удельная масса воды в организме колеблется от 50 до 70 %. Она состоит из внутриклеточной (примерно 40 % от массы тела) и внеклеточной воды: внутрисосудистой (5 %) и интерстициальной (15 % от массы тела). Водный баланс за сутки – 2000 мл. Вода поступает в организм за счет питья (1500 мл) и еды (500 мл). Выделяется с испражнениями (250 мл), с мочой (800–1500 мл) и неощутимые потери влаги (600 мл). Количество жидкостей в организме может изменяться за счет изменения объема, концентрации ионов и их состава.

Дефицит объема жидкости – наиболее частая проблема у хирургических больных и больных с инфекционной патологией. Причина – потеря жидкости при рвоте, через свищи, при кровотечениях и перемещение жидкости в интерстициальное пространство при травмах и инфекционных процессах. Клинически при этом наблюдаются ортостатическая гипотензия, снижение диуреза и небольшое понижение температуры тела. Лечение заключается в восполнении циркулирующего объема плазмы изотоническими солевыми растворами.

Важное значение при проведении дезинтоксикационной терапии принадлежит сохранению или восстановлению нормального состава ионов в плазме (натрий, калий, кальций). Прежде всего, необходимо решить вопрос, требуется ли возмещение этих веществ в ходе инфузионной терапии.

5.4.2. Неинвазивные сорбционные методы детоксикации

К неинвазивным сорбционным методам детоксикации относят методы детоксикации, метаболической и иммунологической коррекции, в процессе проведения которых не осуществляется прямой контакт сорбента с кровью. У больных практическое применение нашла гастроинтестинальная энтеросорбция.

Сорбенты. В качестве энтеросорбентов используют активированные угли медицинского назначения (уголь активированный, карболен, карбактин и др.), пористые полимеры растительного и природного происхождения (полисорб МП, полифепан, лигносорб, пектины и др.), ионообменные материалы (холестирамин, вазозан), синтетические полимеры (энтеродез, энтеросорб). Выбор сорбентов зависит от конкретных задач терапии, способа введения, переносимости больными терапии и других условий.

Наиболее эффективным оказался способ энтеральной детоксикации запатентованный нами.

При применении данного метода используются следующие препараты:

Лактулоза – синтетический слабительный пребиотик, относится к дисахаридам: ее молекула состоит из остатков галактозы и фруктозы. Лактулоза не расщепляется пищеварительными ферментами, не всасывается в желудке и тонкой кишке, и в неизменном виде достигает толстой кишки. Кишечной флорой толстой кишки лактулоза расщепляется на низкомолекулярные органические кислоты, которые приводят к понижению рН и посредством осмотического давления – к увеличению объема кишечного содержимого. Указанные эффекты стимулируют перистальтику кишечника и оказывают влияние на консистенцию стула. В результате отмечается слабительный эффект. Помимо этого происходит подавление протеолитических бактерий, увеличение количества ацидофильных бактерий (например, лактобацилл), поглощение аммиака толстым кишечником, очищение кишечника (благодаря низкому показателю рН), уменьшение азотсодержащих токсических веществ путем стимуляции бактерий, связывающих аммиак в процессе белкового синтеза. Послабляющий эффект лактулозы при дозе 40–50 мл составляет 90–120 минут.

Энтеросорбенты – препараты медицинского назначения, обладающие высокой сорбционной емкостью, не разрушающиеся в желудочно-кишечном тракте и способные путем адсорбции, ионообмена или комплексообразования связывать экзо- и токсические эндогенные вещества различной природы, включая патогенные бактерии и бактериальные токсины, антигены, пищевые аллергены, лекарственные препараты и яды, соли тяжелых металлов, радионуклиды, алкоголь. Они также сорбируют некоторые продукты обмена веществ организма, в том числе избыток билируби-

на, мочевины, холестерина и липидных комплексы, а также метаболиты, ответственные за развитие эндогенного токсикоза.

Способ осуществляется следующим образом. Пациенту с заболеванием, сопровождающимся иммунными нарушениями, одновременно с началом базового курса лечения назначают прием 1 раз в сутки пребиотика обладающего слабительным действием, и энтеросорбента. Пребиотик, например лактулозу (дюфалак, прелакс, лактусан и проч.), используют в виде сиропа (100 мл раствора содержит 66,7 г лактулозы; вода – до 100 мл). Дозу препарата подбирают индивидуально: из расчета 0,5 мл сиропа на 1 кг массы пациента (в среднем 30–60 мл). При отсутствии слабительного эффекта лактулозы после первого приема назначают повторный прием лактулозы – $\frac{1}{2}$ первоначальной дозы (20–30 мл). Через 8–12 ч пациент принимает энтеросорбент, например полисорб МП, в виде водной взвеси в стандартной дозировке. В качестве энтеросорбента могут также применяться уголь активированный, энтеросгель, лактофильтрум. В зависимости от степени тяжести токсикоза курс энтеральной детоксикации включает 3–5 ежедневных процедур комплексного приема слабительного пребиотика и энтеросорбента.

Противопоказания к проведению детоксикационной терапии указанным методом: галактоземия, повышенная чувствительности к компонентам препаратов, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в фазе обострения, кровотечения из желудочно-кишечного тракта, атония кишечника, непроходимость кишечника.

5.4.3. Инвазивные методы эфферентной терапии

Инвазивные методы эфферентной терапии показаны при тяжелых интоксикациях, также отмечен их эффект при различных хронических иммунопатологических состояниях.

К экстракорпоральной гемокоррекции (ЭГ) относятся трансфузиологические операции направленного количественного и качественного изменения клеточного, белкового, водно-электролитного, ферментного, газового состава крови во внеорганизменном перфузионном контуре кровообращения.

Эти изменения на сегодняшний день реализуются с помощью мембранной, сорбционной, центрифужной, электромагнитной и преципитационной технологий обработки крови, проведением внутривенных вливаний.

Гемодиализ – метод детоксикации, основанный на принципе диффузионного и фильтрационного переноса через полупроницаемую мембрану низкомолекулярных токсических субстанций, электролитов и внутрисосудистой жидкости из циркулирующей экстракорпорально крови в диализи-

рующий раствор. В настоящее время под аппаратом для гемодиализа (как и для других экстракорпоральных операций) понимают монитор, систему магистралей и массообменное устройство – диализатор, который и определяет качественные характеристики гемодиализа.

Гемофильтрация и ультрафильтрация – методы детоксикации, основанные на принципе фильтрационного переноса жидкости и некоторых токсических субстанций через полупроницаемую мембрану из циркулирующей экстракорпорально крови за счет градиента давления. При этом, если в качестве массообменных устройств применяют диализаторы, мембрана которых имеет коэффициент фильтрации 2,5–70 мл/мин, операция носит название «изолированная ультрафильтрация», или «сухой диализ»; в случае использования гемофильтров, мембрана которых имеет коэффициент фильтрации 90–140 мл/мин, операция называется «гемофильтрация». Соответственно, если при ультрафильтрации из крови выводятся ионы и низкомолекулярные вещества, то при гемофильтрации – вещества низкой и частично средней молекулярной массы, а объем выводимой жидкости таков (до 5–7 л/ч), что требует адекватного инфузионного замещения специальными растворами или приготовляемыми из стандартных солевых концентратов в специальных мониторах для гемодиализа и гемофильтрации.

Гемосорбция (гемокарбонперфузия) – метод детоксикации, основанный на выведении из крови большого токсических субстанций путем перфузии через адсорбенты в экстракорпоральном контуре. Для сорбции наиболее часто применяются активированные угли и ионообменные смолы.

Лимфосорбция – метод ЭГ, основанный на дренировании грудного лимфатического протока, эксфузии и фракционной сорбции лимфы с последующим ее введением в сосудистое русло. Удаление значительного количества лимфы для достижения детоксикационного эффекта оказывалось нередко неблагоприятным для больного в силу невозможности полной компенсации составных частей удаляемой лимфы и клеток, что нарушало белковый и иммунный гомеостаз. В основе активной детоксикации за счет дренажа грудного лимфатического протока и лимфосорбции лежит удаление маркеров начальной токсинемии и факторов вторичной токсической агрессии, которые попадают в лимфу грудного лимфатического протока из очагов и должны дренироваться этой системой.

Плазмаферез – это метод ЭГ, основанный на замене плазмы больного электролитными растворами, препаратами крови и/или кровезаменителями. Если плазмаферез проводят в объеме, превышающем 50%-й объем циркулирующей плазмы, то он носит название плазмообмена. Плазмаферез в силу больших возможностей варьирования методик его проведения (скорость, объем перфузии, объем и качество плазмозамещения, трансфузионная и медикаментозная программа) может иметь детоксикационную, иммунокорректирующую и реокорректирующую направленность. Если при

плазмаферезе выведенная плазма не замещается компонентами крови или кровезаменителями, а сорбируется и реинфузируется – такая операция называется плазмосорбцией. Эта операция может быть неселективной (применение в качестве сорбентов активированных углей), полуселективной (применение ионообменных смол) и селективной (применение иммуносорбентов или аффинных сорбентов). С целью активной детоксикации плазмосорбция редко применяется изолированно, однако она часто дополняет плазмаферез. Такая комбинация (плазмаферез + плазмосорбция) целесообразна при всех вышеизложенных показаниях, связанных с эндотоксикозом.

Цитаферез – метод ЭГ, основанный на выведении определенных клеточных компонентов крови больного и замене их компонентами, препаратами крови и (или) кровезаменителями. Различают следующие варианты цитафереза: эритроцитаферез, тромбоцитаферез, лимфоцитаферез, гранулоцитаферез, стемаферез (выведение СК крови). Как правило, цитаферез дополняет специфические эффекты действия плазмафереза.

Гемоксигенация – метод гемокоррекции, основанный на изменении состава крови путем ее оксигенации при перфузии в экстракорпоральном контуре. В зависимости от массообменного устройства различают пузырьковую, пленочную, мембранную оксигенацию и оксигенацию с помощью фторорганического переносчика кислорода.

Перитонеальный диализ – метод детоксикации, в основе которого лежит диффузионный и фильтрационный перенос через живую мембрану (брюшину) низко-, среднемолекулярных токсических субстанций и жидкости из внутри- и внесосудистого пространства в естественно существующую полость брюшины. С помощью этой технологии можно удалять из крови и всей внутренней среды организма, прежде всего, экзогенные и эндогенные водорастворимые вещества.

При проведении курса лечения могут применяться как один метод ЭГ, так и их сочетание и даже меняться интенсивность и направленность эффекта принципиально одного метода. Более того, в ряде случаев для достижения желаемого результата необходима комбинация методов гемокоррекции в одном экстракорпоральном контуре, позволяющая либо потенцировать основную направленность ЭГ, либо достигать сочетаемой направленности, либо нивелировать нежелательное действие изолированной операции.

Фотогемотерапия представляет собой дозированное облучение крови квантами света с длиной волны 280–680 нм (верхняя часть ультрафиолетового спектра и видимый свет). Вызываемое фотонами возбуждение биомолекул и функционально-структурные изменения форменных элементов крови приводят к существенной активации лейкоцитов, факторов неспецифической резистентности организма, изменению проницаемости мембран и запуску опосредованных каскадных фотохимических реак-

ций. Считается, что коротковолновое облучение крови (до 400 нм) обуславливает в основном иммунокорригирующий эффект, а длинноволновое облучение оптического диапазона существенно улучшает реологические свойства крови и микроциркуляцию.

Проведение дезинтоксикации (очищения организма) – одно из самых важных мероприятий при лечении больного с иммунными нарушениями. Клеткам постоянно угрожает загрязнение: вредные вещества поступают как из внешней среды, так и образуются внутри организма в процессе жизнедеятельности. Если внутреннюю среду не очищать, клетки погибнут. Это дает нам основания назвать дезинтоксикационную терапию одним из важнейших мероприятий при лечении пациента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунопатологические состояния – это состояния, связанные с нарушением функционирования иммунной системы, от недостаточности до реагирования на эндогенные антигены и избыточного реагирования на экзогенные антигены, которые проявляются различными заболеваниями. По данным Всемирной организации здравоохранения заболевания, связанные с нарушениями иммунной системы, во всем мире стабильно занимают первое место. Это бактериальные, вирусные, грибковые инфекции, онкологические, аллергические и аутоиммунные болезни; вялотекущие, рецидивирующие инфекционно-воспалительные заболевания дыхательного, желудочно-кишечного и урогенитального трактов, кожи и мягких тканей.

В основе развития иммунопатологических состояний, и как следствие развития заболеваний, ведущее значение принадлежит метаболическим процессам в клетках иммунной системе. Основные метаболические пути является общими для большинства клеток организма, и включают в себя три взаимосвязанных между собой процесса:

- распад органических веществ (углеводы, жиры, белки) с аккумуляцией энергии – энергетическое звено;
- синтез мономеров и макромолекул (с затратой энергии), в том числе гормонов, ферментов, кофакторов и пр. – пластическое звено;
- процесс обезвреживания и выведения токсичных продуктов, полученных в результате обмена веществ (продуктов метаболизма), в том числе свободных радикалов – звено утилизации.

Наиболее информативными показателями внутриклеточного метаболизма являются оксидоредуктазы. Это связано с тем, что основными переносчиками электронов в клетке являются пиридиновые нуклеотиды (коферменты дегидрогеназ), а отсюда активное участие оксидоредуктаз в биоэнергетических процессах. Кроме того, оксидоредуктазы, участвуя в направленной координации сопряженных метаболических потоков, в значительной степени обуславливают адаптивные изменения внутриклеточного обмена веществ. В связи с этим, мы рассмотрели химизм фермента-

тивных реакций и метаболическое значение ряда оксидоредуктаз, активность которых исследована нами в клетках иммунной системы.

Представленные нами результаты исследования показывают, что при иммунопатологических состояниях значительно изменяются метаболические параметры клеток иммунной системы. При исследовании активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ у больных раком легкого в зависимости от гистологического типа опухоли обнаружено, что состояние метаболизма лимфоцитов крови у больных МРЛ значительно отличается от интенсивности обменных процессов при ПКР и аденокарциномой. При этом независимо от гистологического типа опухоли у больных раком легкого снижается интенсивность анаэробных и аэробных процессов. Особенностью состояния метаболизма у больных аденокарциномой является снижение уровня ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла и повышение активности глутатион-зависимой антиоксидантной системы. В лимфоцитах лимфоузлов при мелкоклеточном раке легкого значительно повышена активность пластических процессов, катаболических реакций липидного обмена и уровень анаэробных и аэробных реакций. При сравнении уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов лимфоузлов корня легкого у больных с различным гистологическим вариантом НМРЛ выявлены менее значительные различия, выражающиеся в более выраженном снижении интенсивности гликолиза и аэробных реакций при аденокарциноме, по сравнению с ПКР.

Установлены зависимости метаболического состояния лимфоцитов крови от стадии заболевания. Уже на I стадии НМРЛ обнаружено ингибирование анаэробных и аэробных энергетических процессов, при снижении активности дегидрогеназных реакций, определяющих состояние пластических и анаболических процессов. На II стадии заболевания выявляется некоторое восстановление интенсивности анаэробного окисления глюкозы при выраженных нарушениях метаболического состояния митохондриального компартмента лимфоцитов крови (повышенная активность НАДИЦДГ и ингибирование МДГ). В лимфоцитах крови больных с III стадией заболевания сохраняется снижение активности ключевой реакции липидного анаболизма, но при восстановлении активности Г6ФДГ и интенсивности гликолиза. При этом выявленные уровни активности метаболических ферментов митохондриального компартмента лимфоцитов, позволяют предположить снижение интенсивности аэробных дыхательных процессов. На IV стадии НМРЛ восстанавливается интенсивность метаболических реакций, определяющих интенсивность пластических и анаболических процессов, но при выраженном снижении уровня активности анаэробного окисления глюкозы и аэробных процессов.

Учитывая, что особую роль в канцерогенезе играют дефекты генов, контролирующих повреждение ДНК и клеточную пролиферацию, нами исследованы активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов у боль-

ных раком легкого в зависимости от полиморфизма генов белка p53 и GSTM1. Обнаружено, что при гомозиготе p53 по нормальному аллелю в лимфоцитах крови повышен уровень пластических и энергетических процессов, увеличена интенсивность субстратного стимулирования реакций аминокислотного обмена. Сниженная активность ключевой реакции липидного анаболизма и стимулирование анаэробного окисления глюкозы может привести к понижению липидного пула лимфоцитов крови и нарушению мембранных процессов. В лимфоцитах лимфоузлов корня легкого выявляется минимальный отток субстратов на пластические процессы, но при высоком уровне терминальных реакций гликолиза. Уровень состояния метаболизма в митохондриальном компартменте находится на минимальном уровне в сравнении с показателями, выявленными при гетерозиготном состоянии и гомозиготе по мутантному аллелю. Метаболизм лимфоцитов крови у больных с гетерозиготным состоянием гена p53 характеризуется снижением активности анаэробного окисления глюкозы. Уровень состояния метаболизма в митохондриальном компартменте находится на минимальном уровне в сравнении с показателями, выявленными при гетерозиготном состоянии и гомозиготе по мутантному аллелю. Метаболизм лимфоцитов крови у больных с гетерозиготным состоянием гена p53 характеризуется снижением активности анаэробного окисления глюкозы. Интенсивность субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот соответствует уровню, выявленному у больных с гомозиготой по нормальному аллелю. В лимфоцитах лимфоузлов повышается активность пластических процессов, зависящих от интенсивности пентозофосфатного цикла. В связи с этим, независимо от компенсаторного повышения ГЗФДГ понижается интенсивность анаэробного дыхания клеток. Состояние субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот характеризуется повышенным уровнем НАДИЦДГ и неизменной (по сравнению с выявленным при гомозиготе по нормальному аллелю) активностью МДГ, что определяется НАДФН-зависимым оттоком субстратов на реакции аминокислотного обмена. Метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с гомозиготой по мутантному аллелю характеризуется повышенным оттоком субстратов на реакции пластического обмена, стимуляцией гликолиза продуктами липидного катаболизма и высоким уровнем реакций начального этапа цикла трикарбоновых кислот. Однако терминальные реакции лимонного цикла находятся на низком уровне, что может сопровождаться ингибированием процессов аэробного дыхания. Состоянием метаболизма лимфоцитов лимфоузлов корня легкого характеризуется повышенной активностью Г6ФДГ, очень низкой интенсивностью анаэробного окисления глюкозы, но при повышении уровней ферментов, определяющих аэробное дыхание клеток.

Метаболизм лимфоцитов крови у больных НМРЛ с генотипом GSTM1+ характеризуется снижением интенсивности пластических процессов, зависящих от продуктов пентозофосфатного цикла, активности пе-

рeноса продуктов липидного катаболизма через ГЗФДГ на реакции гликолиза, но при повышении уровня анаэробного окисления глюкозы. Особенностью метаболизма лимфоцитов крови у больных с GSTM1 0/0 (в сравнении с метаболическими процессами при GSTM1+) определяется повышенной активностью ряда реакций макромолекулярного синтеза, терминальных реакций гликолиза и реакций, определяющих интенсивность аэробного дыхания. При генотипе GSTM1 0/0 в лимфоцитах региональных лимфоузлов (в сравнении с метаболическими процессами при GSTM1 +) значительно снижается интенсивность пластических процессов, зависящих от активности пентозофосфатного цикла, а также уровень терминальных реакций гликолиза. Выявленная при генотипе GSTM1 0/0 снижение активности ГР может привести к повышению интенсивности перекисных процессов и к снижению пролиферативной способности клеток иммунной системы. Однако при снижении интенсивности метаболических процессов цитоплазматического компартмента в клетках иммунной системы лимфоузлов у больных раком легкого при GSTM1 0/0 генотипе выявляется изменения метаболических показателей, характеризующих стимуляцию интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, что соответственно может повышать уровень аэробного дыхания.

Значительные иммунометаболические изменения определяются и при вирусных инфекциях. Мы считаем, что вторичное иммунодефицитное состояние характеризуется не только и не столько снижением количества Т-клеток и нарушением соотношения их субпопуляций, сколько функциональной несостоятельностью лимфоцитов. В «микрoпатогенезе» герпетической инфекции на клеточном уровне важное место занимает патологическое действие, которое оказывает весь процесс вирусной репродукции на клеточные мембраны, в том числе цитоплазматические и митохондриальные; при этом меняется их проницаемость, а вследствие этого и транспорт веществ, регулирующих определенные звенья метаболизма. Поскольку митохондрии обладают собственной ДНК и зависимой от нее системой синтеза РНК, они имеют все необходимое для автономного биосинтеза белка. Вполне естественно, что этот биосинтез, в нормальных условиях полностью согласованный с функцией клеточного генома, при систематическом нарушении функции митохондриальных мембран резко меняется и может служить источником патологических продуктов, репрессивных или депрессивных метаболические процессы, ингибируя функциональную активность клеток иммунной системы. Например, у лиц с РГВИ при ремиссии заболевания в лимфоцитах периферической крови снижается интенсивность гликолиза, скорость цикла Кребса, дезактивируются глицеролфосфатный и малатаспартатный челночные механизмы и, как следствие этого, угнетается клеточное дыхание.

При исследовании НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагруз-

ки, установлено, что уже при низком уровне содержания вирусной ДНК в сыворотке крови в лимфоцитах крови снижается интенсивность метаболических реакций, определяющих активность анаэробных и аэробных процессов. При средней степени вирусной нагрузки выявляется наиболее выраженное изменение метаболических реакций, определяющих недостаточность энергетических процессов, при высокой обнаружен наименьший уровень изменения активности исследуемых дегидрогеназ в лимфоцитах крови. У больных данной группы установлено снижение интенсивности анаэробного окисления глюкозы и повышение оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена при относительном увеличении активности ГР. Только при средней и высокой степени вирусной нагрузки выявляется наличие корреляционных взаимосвязей между уровнем содержания вирусной ДНК в сыворотке крови и активностью некоторых из исследуемых оксидоредуктаз лимфоцитов, что отражает увеличение степени недостаточности энергетических и анаболических реакций при высоком уровне содержания ДНК ВГВ.

Значительные изменения иммунометаболических параметров определяются у больных бактериальными инфекциями. Независимо от степени тяжести РГП в лимфоцитах периферической крови снижена интенсивность анаэробного и аэробного дыхания, реактивность глутатион-зависимой антиоксидантной системы, а также уровень липидного анаболизма и субстратного взаимодействия между циклом трикарбоновых кислот и реакциями аминокислотного обмена. При средней степени тяжести РГП выявляется более выраженная реакция метаболизма лимфоцитов крови, характеризующаяся ингибированием ключевой и инициализирующей реакции пентозофосфатного цикла и аэробной реакции ЛДГ. В то же время, при тяжелой степени тяжести РГП в лимфоцитах крови выявляется более выраженное снижение активности НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназной реакции. Так же установлены особенности метаболических механизмов хемилюминесцентной реакции нейтрофильных гранулоцитов у больных РГП в зависимости от исхода заболевания. Обнаружено, что при неблагоприятном исходе РГП в нейтрофильных гранулоцитах активированы ферментативные реакции, характеризующие интенсивность анаэробных и аэробных процессов.

Острый гайморит является наиболее частым осложнением острой респираторной вирусной инфекции и стоит на одном из первых мест среди заболеваний ЛОР-органов. В ряде случаев гаймориты отличаются упорным течением и трудно поддаются консервативному лечению. Состояние метаболизма лимфоцитов при гайморитах характеризуется снижением активности МДГ и компенсаторным повышением активности шунтирующей реакции малик-фермента. Особенностью метаболизма лимфоцитов у больных ОГ является снижение интенсивности субстратного потока на пентозофосфатный цикл и повышение НАДФН-зависимого субстратного оттока

с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. При хронизации заболевания данные процессы нормализуются но повышается уровень липидного катаболизма, что проявляется в субстратной стимуляции окислительно-восстановительных реакций гликолиза. Т.е. в процессе хронизации процесса возникает перестройка метаболизма лимфоцитов.

Диффузный токсический зоб (ДТЗ) и аутоиммунный тиреоидит (АИТ) являются наиболее распространенными органоспецифическими аутоиммунными заболеваниями. АИТ и ДТЗ имеют сходную этиологию – аутоиммунный процесс, но различный патогенез, специфичность которого на уровне организма проявляется, в том числе и уровнем тиреоидных гормонов. В основе патогенеза данных патологий лежит аутоиммунный процесс, исходом которого является гипертиреоз (при ДТЗ) и гипотиреоз (при АИТ). Анализ полученных результатов проведен нами, исходя из предположения, что общие изменения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови характеризуют аутоиммунный процесс, в то время как специфические особенности метаболизма клеток определяются регуляторным воздействием разных доз тиреоидных гормонов. При этом выраженных различий со стороны метаболизма лимфоцитов в зависимости от уровня АТкТПО у больных ДТЗ не обнаружено. Метаболизм лимфоцитов при ДТЗ в целом характеризуется высоким уровнем активности глутаматдегидрогеназ, осуществляющих субстратное взаимодействие цикла трикарбоновых кислот и реакций аминокислотного обмена, малатаспартатного шунта и глутатионредуктазы. Только у больных ДТЗ с уровнем АТкТПО меньше 100 мЕд/л выявляется снижение активности НАДФИЦДГ. С помощью корреляционного анализа установлена разнонаправленность в регуляторном влиянии на метаболизм лимфоцитов высокого уровня тиреоидных гормонов и АТкТПО. У больных ДТЗ с уровнем АТкТПО больше 100 мЕд/л выявляется усиление дизрегуляторных процессов, проявляющееся в полной потере взаимосвязей концентрации АТкТПО с иммунологическими показателями и уровнями активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов.

При исследовании активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией обнаружено увеличение интенсивности реакций, определяющих функции пентозофосфатного цикла, гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Увеличение активности ферментов, отражающих интенсивность анаэробного и аэробного дыхания лимфоцитов у больных истинной аллергией выше, чем у лиц с псевдоаллергией. В связи с этим предполагается, что для реализации повышенной функциональной активности лимфоцитов при истинной аллергии необходимо выраженное увеличение энергетических процессов. В то же время, изменение активности исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов у лиц с псевдоаллергией определяется выбросом в кровь “медиаторов аллергии”. Применение нейросетевого

моделирования позволило установить ферменты, наиболее информативно характеризующие метаболическую систему лимфоцитов при данных патологических состояниях.

Таким образом, учитывая высокую информативность метаболических показателей для характеристики функционального состояния лимфоцитов, исследование метаболических параметров позволит улучшить диагностику иммунных нарушений, правильно выбрать тактику иммунокорректирующей терапии, оценить эффект действия различных иммуномодуляторов и разработать иммунореабилитационные мероприятия с учетом выявленных метаболических нарушений.

Очевидно, что без повышения иммунологической реактивности трудно (или невозможно) добиться хорошего клинического эффекта при различных иммунопатологических процессах. Одним из главных методов коррекции иммунитета является применение иммуноактивных препаратов. В настоящее время врач-иммунолог располагает достаточно большим арсеналом таких лекарственных средств. Однако при всей очевидности необходимости использования такой терапии в комплексном лечении пациентов, механизм назначения препаратов представляет собой сложную задачу и не может в настоящее время считаться разработанным. С одной стороны нет четких критериев применения конкретных препаратов при тех или иных иммунных нарушениях, с другой стороны большинство препаратов не обладают тропностью действия. При этом необходимо помнить, что для каждого пациента лекарственные средства действуют индивидуально в зависимости от генетических особенностей пациента и особенностью его метаболизма на момент приема препарата. Иммунометаболическая терапия с этих позиций является наиболее оптимальным методом лечения с четкими критериями применения препаратов. Многочисленные исследования, в том числе и с позиций доказательной медицины показали их эффективность.

Метаболическая терапия достаточно успешно используется в кардиологии и неврологии. Практикующие врачи эмпирически применяют его и при лечении иммуноопосредованных заболеваний. С учетом влияния на метаболизм клетки можно выделить следующие группы препаратов:

- 1) препараты, преимущественно влияющие на энергетические процессы клетки (энергетики);
- 2) средства, направленные на пластические реакции клетки (пластики);
- 3) средства, устраняющие продукты метаболизма в клетки (утилизаторы).

С позиций биохимических реакций в каждой группе необходимо выделить препараты, действующие на регуляцию какой-либо реакции (гормоны, ферменты и коферменты) и субстраты этой реакции (естественные метаболиты).

Учитывая выявленные метаболические изменения в клетках иммунной системы при различных иммунопатологических состояниях, обосновано применение препаратов, корректирующих метаболические нарушения кле-

ток иммунной системы. Подобный подход позволит практическим врачам проводить эффективные лечебные мероприятия и реализовать надежные методы профилактики с учетом индивидуальных особенностей больного.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Абрамова З.И., Нсангу М.М.Д., Винтер В.Г. Дезоксирибонуклеазы лимфоцитов периферической крови человека при бронхиальной астме // Учен. зап. Казанс. гос. ун-та. – 2006. – Т. 148, Кн. 1. – С. 123–137.

Адо А.Д. Общая аллергология. – М.: Медицина, 1978. – 620 с.

Аксель Е.М. Состояние онкологической помощи населению России и стран СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2011. – Т. 22, № 3 (прил. 1). – С. 9–53.

Барышников А.Ю. Взаимоотношения опухоли и иммунной системы организма // Практич. онкология. – 2003. – Т.4, № 3. – С. 127–130.

Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.

Бобров В.М., Коробейникова Н.М., Манохин М.А. Одонтогенные гаймориты // Рос. ринология. – 2007. – № 2. – С. 57–58.

Винник Ю.С., Здзитовецкий Д.Э. Послеоперационная санация брюшной полости при распространенном перитоните // Дальневост. мед. журн. – 2011. – № 3. – С. 19–21.

Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биол. химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–388.

Гаврилюк Л.А., Корчмару И.Ф., Робу М.В., Лысый Л.Т. Глутатионзависимые ферменты и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа в крови больных лимфосаркомой (неходжкинской лимфомой) // Биомед. химия. – 2011. – Т. 57, № 2. – С. 225–231.

Галкин А.А., Демидова В.С. Роль внутриклеточного рН в модуляции функций нейтрофилов // Успехи соврем. биологии. – 2009. – Т. 129, № 4. – С. 355–369.

Горбань А.Н., Россиев Д.А. Нейронные сети на персональном компьютере. – Новосибирск: Наука, 1996. – 276 с.

Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2009 г. // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2011. – Т. 22, № 3 (прил. 1). – С. 54–92.

Давыдов М.И., Аксель Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000 г. – М.: РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, 2002. – 281 с.

Долгих В.Т. Опухолевый рост (избранные лекции). – М.: Мед. кн., 2001. – 80 с.

Ельчанинов А.В., Большакова Г.Б. Пролиферация и клеточная гибель гепатоцитов регенерирующей печени плодов крыс // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 4. – С. 313–317.

Ефременко Е.С., Высокогорский В.Е., Лопухов Г.А. Модификация обмена глутатиона при алкогольной абстиненции // Астрах. мед. журнал. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 184–186.

Здзитовецкий Д.Э., Винник Ю.С., Борисов Р.Н. Динамика и хирургическая коррекция полиорганной недостаточности у больных распространённым гнойным перитонитом с тяжёлыми исходными проявлениями системного воспаления // Вестн. эксперим. и клин. хирургии. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 253–257.

Зинченко В.П., Антонов С.А., Сергеев А.И. Конститутивно-активный кальциевый канал плазматической мембраны Т-лимфоцитов // Биологические мембраны: Журн. мембранной и клеточной биологии. – 2009. – Т. 26, № 4. – С. 293–297.

Змызгова А.В. Клиническое значение иммунодефицитных состояний у больных вирусным гепатитом В // Тер.архив. – 1992. – № 2. – С.18–20.

Измеров Н.Ф. Спорт как профессия: медико-социальные аспекты // Медицина труда и промышленная экология. – 2011. – № 3. – С. 1–6.

Ильин М.В., Розанов Д.В., Чмырь В.В. и др. Сравнительная характеристика показателей кислородзависимого метаболизма и апоптоза нейтрофилов при некоторых ревматологических заболеваниях // Иммунология. – 2009. – № 5. – С. 267–269.

Инсанов А.Б., Абдуллаев Ф.М., Коцобашвили Л.Я., Умняшкин А.А. Геногеография наследственного дефицита фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и туберкулеза легких в Азербайджане // Пробл. туберкулеза. – 1993. – № 2. – С.5–8.

Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 303 с.

Калабанова Е.А., Неродо Г.А., Шихлярова А.И. и др. Особенности энергетического метаболизма лимфоцитов крови у больных раком шейки матки с манифестированными метастазами // Медицинская наука и образование Урала. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 20–23.

Касти Дж. Большие системы: Связность, сложность и катастрофы: пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 216 с.

Кетлинский С.А. Гуморальный иммунный ответ на ВИЧ-инфекцию и нарушение функций В-лимфоцитов // Мед. иммунология. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 183–188.

Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: руководство для врачей. – Новосибирск: Наука, 2009. – 274 с.

Косинец В.А. Изменения в системе иммунитета при распространенном гнойном перитоните и возможности их коррекции // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 3. – С. 36–42.

Кузнецова И.А., Дмитриева А.И., Ракитин С.С., Новицкий В.В. Полиморфизм генов-регуляторов клеточного цикла p53 и P21WAF1/CIP1 при раке лёгкого // Сиб. мед. журнал. – 2012. – Т. 110, № 3. – С. 47–50.

Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е. и др. Участие актинового цитоскелета во влиянии препаратов глутоксим и моликсан на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 2. – С. 135–142.

Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шкапова Е.А. Клинические аспекты функциональных нарушений нейтрофильных гранулоцитов при онкопатологии. – Новосибирск: Наука, 2009. – 184 с.

Лазуткина Е.Л., Ландышев Ю.С., Цырендоржиев Д.Д., Ландышев С.Ю. Изменение спектра цитокинов в сыворотке крови больных бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести и формы заболевания // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2012. – № 43. – С. 13–18.

Левенкова М.В., Попова Т.Н., Семенихина А.В. регуляторные свойства глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы из печени крыс в условиях интенсификации свободнорадикального окисления при токсическом гепатите // Биомед. химия. – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 278–286.

Маянский Н.А., Роос Д., Кайперс Т. Каспазозависимый путь клеточной гибели нейтрофилов человека, индуцированный $TNF\alpha$ // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 1. – С. 29–35.

Мечников И.И. Клеточные яды (цитотоксины) // Рус. арх. патологии, клин. медицины и бактериологии. – 1901. – Т. 11, № 2. – С. 101.

Мечников И.И. Лекции о сравнительной патологии воспаления. – М.: Медгиз, 1947. – 200 с.

Миль Е.М., Гуревич С.М., Козаченко А.И. и др. Влияние курения и опухолевого процесса на содержание ключевых белков апоптоза и активность антиоксидантных ферментов крови // Изв. РАН. Сер. биол. – 2012. – № 1. – С. 19–26.

Митин Ю.А., Дмитриев В.И., Кузьмич А.Н. и др. Иммунометаболические критерии инфекции ВИЧ/Тез. докл. 1-го съезда иммунологов России, 23–25 июня 1992. – Новосибирск, 1992. – С.303–304.

Мокроносова М.А., Коровкина Е.С. Аллергия к клещам домашней пыли с позиций молекулярной аллергологии // Медиц. иммунология. – 2012. – Т. 14, № 4–5. – С. 279–288.

Нейроинформатика. – А.Н. Горбань, В.Л. Дунин-Барковский, А.Н. Кирдин и др. – Новосибирск: Наука, 1998. – 296 с.

Новицкий В.В., Уразова О.И., Филинук О.В. и др. Показатели апоптоза и пролиферативной активности лимфоцитов у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью к *M. tuberculosis* // Мед. иммунология. – 2012. – Т. 14, № 1–2. – С. 119–126.

Пастушенков В.Л., Бельчесов Н.В., Митин Ю.А., Кузьмич А.Н. Иммунометаболический мониторинг инфицированных ВИЧ // Иммунология. – 1990. – № 6. – С. 7–9.

Петров Р.В. Иммунология. – М.: Медицина, 1982. – 368 с

Плескова С.Н., Михеева Э.Р., Горшкова Е.Н., Хомутов А.Е. Нарушения ферментативной активности нейтрофильных гранулоцитов под воздействием наноразмерных флуорофоров // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – № 5–1. – С. 106–109.

Рагимов А.А., Байрамалибейли И.Э. Розеткообразующая способность и пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови лиц с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы // Лаб. дело. – 1985. – № 7. – С. 405–408.

Робинсон М.В., Топоркова Л.Б., Труфакин В.А. Морфология и метаболизм лимфоцитов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 127 с.

Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.

Савченко А.А., Анисимова Е.Н., Борисов А.Г., Кондаков А.Е. Витамины как основа иммунометаболической терапии. – Красноярск: КрасГМУ, 2011. – 213 с.

Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета у больных с распространенным гнойным перитонитом // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 3 (85). – С. 159–163.

Савченко А.А., Смирнова С.В. Особенности уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией // Вестн. новых мед. технологий. – 2001. – № 2. – С. 64–67.

Савченко А.А., Смирнова С.В., Пыцкий В.И. Метаболические особенности лимфоцитов крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией // Аллергология и иммунология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 180–187.

Саприна Т.В. Особенности продукции и рецепции интерлейкина-2 и интерлейкина-4 при аутоиммунных тиреопатиях // Мед. иммунология. – 2012. – Т. 14, № 4 – 5. – С. 365–373.

Сафонова О.А., Попова Т.Н., Саиди Л. Функционирование глутатионпероксидазной/ глутатионредуктазной системы в тканях крыс при действии цитрата на фоне развития тиреотоксикоза // Вестн. Воронеж. гос. унта. Сер. «Химия. Биология. Фармация». – 2011. – № 1. – С. 144–148.

Светящиеся бактерии. – И.И. Гительзон, Э.К. Родичева, С.Е. Медведева и др. – Новосибирск: Наука, 1984. – 278 с.

Суковатых Б.С., Блинков Ю.Ю., Фролова О.Г. Механизмы развития распространенного перитонита // Вестн. эксперим. и клин. хирургии. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 469–477.

Таширева Л.А., Бельдягина Е.В., Васильева О.А. и др. Монооксид углерода: роль в митохондриальном пути запуска апоптоза опухолевых клеток линии JURKAT // Мед. иммунология. – 2012. – Т. 14, № 4–5. – С. 353–359.

Тюлькова Н.А., Антонова Э.В. НАД(Ф)Н-реагент для биолюминесцентного анализа. – Красноярск: ИБФ, 1991. – 18 с. – (Препринт/ Институт биофизики СО АН СССР; № 157 Б).

Уразова О.И., Новицкий В.В., Помогаева А.П. и др. Структурно-метаболический статус мононуклеаров периферической крови при инфекционном мононуклеозе // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.131, № 5. – С.571–573.

Ушакова Н.В., Маркова Е.В., Лапешин П.В., Московских М.В. Комбинированные полиморфизмы генов GSTM1, GSTT1 и p53 в ассоциации с риском развития различных гистологических типов рака легкого // Мед. генетика. – 2006. – Т. 5, № 5. – С. 43–46.

Филина Ю.В., Сафронова В.Г., Габдулхакова А.Г. Малые G-белки RAS, RAC и RHO в регуляции респираторного ответа нейтрофилов, вызванного формилированным пептидом // Биол. мембраны: журн. мембран. и клеточн. биологии. – 2011. – Т. 28, № 6. – С. 507-514.

Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.

Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Вторичные иммунодефициты: Клиника, диагностика, лечение // Иммунология. – 1999. – № 1. – С. 14–17

Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа) // Мед. иммунология. – 2009. – Т. 11, № 2 – 3. – С. 227–238.

Хайдуков С.В., Литвинов И.С. Изменение гомеостаза ионов кальция в CD4+ Т-лимфоцитах периферической крови человека в процессе дифференцировки *in vivo* // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 6. – С. 838–849.

Хмелевская В.И., Конопля А.И. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных рожей на фоне применения антиоксидантов // Успехи соврем. естествознания. – 2003. – № 12. – С. 71.

- Цинкернагель Р. Основы иммунологии. – М.: Мир, 2008. – 135 с.
- Чаусов В.Н., Борейко А.В., Красавин Е.А. и др. Закономерности индукции и репарации двунитевых разрывов ДНК в лимфоцитах человека при действии ускоренных тяжелых ионов различных энергий // Радиацион. биология. Радиозэкология. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 72–76.
- Черешнев В.А., Шмагель К.В. Избранные труды. Иммунология. – М.: Издательский дом «Магистр-пресс», 2011. – 421 с.
- Шагарова С.Г. К проблеме иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний щитовидной железы // Сиб. мед. журн. – 2011. – Т. 100, № 1. – С. 42–45.
- Ярилин А.А. Иммунология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
- Abbrescia D.I., La Piana G., Lofrumento N.E. Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome c electron transport pathway as two independent cytosolic reducing equivalent transfer systems // Arch. Biochem. Biophys. – 2012. – Vol. 518, N 2. – P. 157–163.
- Ada A.O., Kunak S.C., Hancer F. et al. Association between GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk in a Turkish population // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39, N 5. – P. 5985–5993.
- Ahmed A., Mukherjee S., Nandi D. Intracellular concentrations of Ca(2+) modulate the strength of signal and alter the outcomes of cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CD152)-CD80/CD86 interactions in CD4(+) T lymphocytes // Immunology. – 2009. – Vol. 126, N 3. – P. 363–377.
- Alexander B.M., Mehta M.P. Role of isocitrate dehydrogenase in glioma // Expert Rev. Neurother. – 2011. – Vol. 11, N 10. – P. 1399–1409.
- Alexandrie A.K., Nyberg F., Warholm M., Rannug A. Influence of CYP1A1, GSTM1, GSTT1, and NQO1 genotypes and cumulative smoking dose on lung cancer risk in a Swedish population // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2004. – Vol. 13, N 6. – P. 908–914.
- Amulic B., Hayes G. Neutrophil extracellular traps // Curr. Biol. – 2011. – Vol. 21, N 9. – P. R297–R298.
- Arruda M.A., Barja-Fidalgo C. NADPH oxidase activity: In the crossroad of neutrophil life and death // Front. Biosci. – 2009. – Vol. 14. – P. 4546–4556.
- Assa'ad A., Fiocchi A. Guidelines change the diagnostic process of cow milk food allergy: problem-based learning // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. – 2012. – Vol. 12, N 5. – P. 564–569.
- Aubert M., Krantz E.M., Jerome K.R. Herpes simplex virus genes Us3, Us5, and Us12 differentially regulate cytotoxic T lymphocyte-induced cytotoxicity // Viral. Immunol. – 2006. – Vol. 19, N 3. – P. 391–408.
- Aulik N.A., Hellenbrand K.M., Kisiela D., Czuprynski C.J. Mannheimia haemolytica leukotoxin binds cyclophilin D on bovine neutrophil mitochondria // Microb. Pathog. – 2011. – Vol. 50, N 3–4. – P. 168–178.
- Babior B.M., Lambeth J.D., Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase // Arch. Biochem. Biophys. – 2002. – Vol. 397, N 2. – P. 342–344.

Bazarin K.P., Savchenko A.A. Special Features of the State of Functional Activity of Neutrophil Granulocytes in Blood During the High Level of Physical Exercises // *J. of Sib. Federal Univer. Hum. & Soc. Sci.* – 2011. – N 4 (9). – P. 1251–1259.

Beaver J.P., Waring P. A decrease in intracellular glutathione concentration precedes the onset of apoptosis in murine thymocytes // *Europ. J. Cell. Biol.* – 1995. – Vol. 68, N 1. – P. 47–54.

Benbarek H., Ayad A., Deby-Dupont G. et al. Modulatory effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the luminol and lucigenin amplified chemiluminescence of equine neutrophils // *Vet. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 36, N 1. – P. 29–33.

Berry M.P., Graham C.M., McNab F.W. et al. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis // *Nature*. – 2010. – Vol. 466, N 7309. – P. 973–977.

Besnard A.G., Togbe D., Couillin I. et al. Inflammasome-IL-1-Th17 response in allergic lung inflammation // *J. Mol. Cell. Biol.* – 2012. – Vol. 4, N 1. – P. 3–10.

Bi Y., Yang R. Direct and indirect regulatory mechanisms in TH17 cell differentiation and functions // *Scand. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 75, N 6. – P. 543–552.

Biswas S.K., Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11, N 10. – P. 889–896.

Bleackley R.C. A molecular view of cytotoxic T lymphocyte induced killing // *Biochem. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 83, N 6. – P. 747–751.

Bone R.S., Balk R.A.B., Cerra F.B. et al. American college of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guide lines for the use of innovative therapies in sepsis // *Crit. Care Med.* – 1992. – Vol. 20, N 6. – P. 864–874.

Bonville C.A., Percopo C.M., Dyer K.D. et al. Interferon-gamma coordinates CCL3-mediated neutrophil recruitment in vivo // *BMC Immunol.* – 2009. – Vol. 10. – P. 14.

Bortell R., Moss J., McKenna R.C. et al. Nicotinamide adenine dinucleotide (nad) and its metabolites inhibit T lymphocyte proliferation: role of cell surface nad glycohydrolase and pyrophosphatase activities//*J. Immunol.* – 2001. – Vol.167, N 4. – P.2049–2059.

Braeuning A. Interplay of β -catenin with xenobiotic-sensing receptors and its role in glutathione S-transferase expression // *Curr. Drug Metab.* – 2012. – Vol. 13, N 2. – P. 203–214.

Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M. et al. Antioxidant activity of *Calendula officinalis* extract: inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy // *Pharmacology*. – 2009. – Vol. 83, N 6. – P. 348–355.

Brent G.A. Environmental exposures and autoimmune thyroid disease // *Thyroid*. – 2010. – Vol. 20, N 7. – P. 755–761.

Brown R.S. Autoimmune thyroid disease: unlocking a complex puzzle // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2009. – Vol. 21, N 4. – P. 523–528.

Bülbül M., Erat M. Investigation of the effects of some sulfonamide derivatives on the activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase and glutathione reductase from human erythrocytes // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 23, N 3. – P. 418–423.

Cabral R.E., Caldeira-de-Araujo A., Cabral-Neto J.B. et al. Analysis of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in circulating plasma DNA of lung cancer patients // *Mol. Cell. Biochem.* – 2010. – Vol. 338, N 1–2. – P. 263–269.

Campello S., Lacalle R.A., Bettella M. et al. Orchestration of lymphocyte chemotaxis by mitochondrial dynamics // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 203, N 13. – P. 2879–2886.

Chattopadhyay S., Sahoo D.K., Roy A. et al. Thiol redox status critically influences mitochondrial response to thyroid hormone-induced hepatic oxidative injury: A temporal analysis // *Cell Biochem. Funct.* – 2010. – Vol. 28, N 2. – P. 126–134.

Chen G., Dimitriou I., Milne L. et al. The 3BP2 Adapter Protein Is Required for Chemoattractant-Mediated Neutrophil Activation // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 189, N 5. – P. 2138–2150.

Chen J., Liou A., Zhang L. et al. GST P1, a novel downstream regulator of LRRK2, G2019S-induced neuronal cell death // *Front. Biosci. (Elite Ed.)*. – 2012. – Vol. 4. – P. 2365–2377.

Chen W., Lin J. Lymphopenia relating to T-lymphocyte apoptosis in systemic lupus erythematosus // *Clin. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 30, N 11. – P. 1515–1516.

Chen X., Yu Y., Pan Q. et al. Enhancement of cytotoxic T lymphocyte activity by dendritic cells loaded with Tat-protein transduction domain-fused hepatitis B virus core antigen // *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. – 2008. – Vol. 40, N 12. – P. 996–1004.

Cheng S.Y., Leonard J.L., Davis P.J. Molecular aspects of thyroid hormone actions // *Endocr. Rev.* – 2010. – Vol. 31, N 2. – P. 139–170.

Cheng Z., Wang W., Dai L.L., Kang Y. MTHFR C667T Polymorphism Association with Lung Cancer Risk in Henan Province: A Case-control Study // *Asian. Pac. J. Cancer*. – 2012. – Vol. 13, N 6. – P. 2491–2494.

Chiampanichayakul S., Szekeres A., Khunkaewla P. et al. Engagement of Na,K-ATPase beta3 subunit by a specific mAb suppresses T- and B-lymphocyte activation // *Int. Immunol.* – 2002. – Vol. 14, N 12. – P. 1407–1414.

Cordeiro A.T., Thiemann O.H., Michels P.A. Inhibition of *Trypanosoma brucei* glucose-6-phosphate dehydrogenase by human steroids and their effects on the viability of cultured parasites // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 17, N 6. – P. 2483–2489.

Córdova A., Sureda A., Tur J.A., Pons A. Immune response to exercise in elite sportsmen during the competitive season // *J. Physiol. Biochem.* – 2010. – Vol. 66, N 1. – P. 1–6.

Czecior E., Gawlik R., Jarzab J. et al. The presence of fungal floras in sinuses in chronic sinusitis patients with polyps // *Otolaryngol. Pol.* – 2012. – Vol. 66, N 4. – P. 259–261.

Davison G., Diment B.C. Bovine colostrum supplementation attenuates the decrease of salivary lysozyme and enhances the recovery of neutrophil function after prolonged exercise // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 103, N 10. – P. 1425–1432.

De Azevedo R.B., Rosa L.F., Lacava Z.G., Curi R. Gonadectomy impairs lymphocyte proliferation and macrophage function in male and female rats. Correlation with key enzyme activities of glucose and glutamine metabolism // *Cell. Biochem. Funct.* – 1997. – Vol. 15, N 4. – P. 293–298.

De Halac I.N., Bacman S.R., De Kremer R.D. Histoenzymology of oxidases and dehydrogenases in peripheral blood lymphocytes and monocytes for the study of mitochondrial oxidative phosphorylation // *Histochem. J.* – 2000. – Vol. 32, N 3. – P. 133–137.

de la Roche M., Tessier S.N., Storey K.B. Structural and functional properties of glycerol-3-phosphate dehydrogenase from a mammalian hibernator // *Protein J.* – 2012. – Vol. 31, N 2. – P. 109–119.

de Miranda N.F., Björkman A., Pan-Hammarström Q. DNA repair: the link between primary immunodeficiency and cancer // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2011. – Vol. 1246. – P. 50–63.

Dela Cruz C.S., Tanoue L.T., Matthay R.A. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention // *Clin. Chest. Med.* – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 605–644.

Dias I.H., Matthews J.B., Chapple I.L. et al. Activation of the neutrophil respiratory burst by plasma from periodontitis patients is mediated by pro-inflammatory cytokines // *J. Clin. Periodontol.* – 2011. – Vol. 38, N 1. – P. 1–7.

Diaz G.A., Koelle D.M. Human CD4⁺ CD25^{high} cells suppress proliferative memory lymphocyte responses to herpes simplex virus type 2 // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80, N 16. – P. 8271–8273.

Diaz Vivancos P., Wolff T., Markovic J. et al. A nuclear glutathione cycle within the cell cycle // *Biochem. J.* – 2010. – Vol. 431, N 2. – P. 169–178.

Djukic M.M., Jovanovic M.D., Ninkovic M. et al. Protective role of glutathione reductase in paraquat induced neurotoxicity // *Chem. Biol. Interact.* – 2012. – Vol. 199, N 2. – P. 74–86.

Dobis D.R., Sawyer R.T., Gillespie M.M. et al. Modulation of lymphocyte proliferation by antioxidants in chronic beryllium disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. – Vol. 177, N 9. – P. 1002–1011.

Dong W., Ge X., Wang M., Xu S. Labeling of BSA and imaging of mouse T-lymphocyte as well as mouse spleen tissue by L-glutathione capped CdTe quantum dots // *Luminescence*. – 2010. – Vol. 25, N 1. – P. 55–60.

El Kebir D., Filep J.G. Role of neutrophil apoptosis in the resolution of inflammation // *Scientific World Journal*. – 2010. – Vol. 10. – P. 1731–1748.

El-Benna J., Dang P.M., Gougerot-Pocidallo M.A. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation: role of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane // *Semin. Immunopathol.* – 2008. – Vol. 30, N 3. – P. 279–289.

Eschler D.C., Hasham A., Tomer Y. Cutting edge: the etiology of autoimmune thyroid diseases // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2011. – Vol. 41, N 2. – P. 190–197.

Fisher G., Schwartz D.D., Quindry J. et al. Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise // *J. Appl. Physiol.* – 2011. – Vol. 110, N 3. – P. 730–737.

Francis N., Wong S.H., Hampson P. et al. Lactoferrin inhibits neutrophil apoptosis via blockade of proximal apoptotic signaling events // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – Vol. 1813, N 10. – P. 1822–1826.

Freed-Pastor W.A., Prives C. Mutant p53: one name, many proteins // *Genes Dev.* – 2012. – Vol. 26, N 12. – P. 1268–1286.

Fu Y., Hou Y., Fu C. et al. A novel mechanism of γ/δ T-lymphocyte and endothelial activation by shear stress: the role of ecto-ATP synthase β chain // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 108, N 4. – P. 410–417.

Fu Z.Y., Zhang Z.B., Hu X.J. et al. Cloning, identification, expression analysis and phylogenetic relevance of two NADP-dependent malic enzyme genes from hexaploid wheat // *C. R. Biol.* – 2009. – Vol. 332, N 7. – P. 591–602.

Fucic A., Gamulin M., Ferencic Z. et al. Lung cancer and environmental chemical exposure: a review of our current state of knowledge with reference to the role of hormones and hormone receptors as an increased risk factor for developing lung cancer in man // *Toxicol. Pathol.* – 2010. – Vol. 38, N 6. – P. 849–855.

Gaba A., Grivennikov S.I., Do M.V. et al. Cutting Edge: IL-10-Mediated Tristetraprolin Induction Is Part of a Feedback Loop That Controls Macrophage STAT3 Activation and Cytokine Production // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 189, N 5. – P. 2089–2093.

Geering B., Simon H.U. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils // *Cell. Death. Differ.* – 2011. – Vol. 18, N 9. – P. 1457–1469.

Gómez E., Torres M.J., Mayorga C., Blanca M. Immunologic evaluation of drug allergy // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2012. – Vol. 4, N 5. – P. 251–263.

Gorgian Mohammadi M., Bamdad T., Parsania M. et al. Kinetics of primary and memory cytotoxic T lymphocyte responses to herpes simplex virus 1

infection: granzyme B mediated CTL activity // *Iran J. Immunol.* – 2009. – Vol. 6, N 1. – P. 22–27.

Görgün G., Anderson K.C. Intrinsic modulation of lymphocyte function by stromal cell network: advance in therapeutic targeting of cancer // *Immunotherapy.* – 2011. – Vol. 3, N 10. – P. 1253–1264.

Green D.R., Scott D.W. Activation-induced apoptosis in lymphocytes // *Curr. Opin. Immunol.* – 1994. – Vol. 6, N 3. – P. 476–487.

Griveas I., Fleva A., Karanikas E. et al. CD4/CD8 T-cell ratio in peritoneal dialysis effluents predicts the outcome of peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis // *Artif. Organs.* – 2009. – Vol. 33, N 12. – P. 1091–1095.

Gryazeva N.I., Shurlygina A.V., Verbitskaya L.V. et al. Changes in various measures of immune status in mice subject to chronic social conflict // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2001. – Vol. 31, N 1. – P. 75–81.

Gu B., Zhu W.G. Surf the post-translational modification network of p53 regulation // *Int. J. Biol. Sci.* – 2012. – Vol. 8, N 5. – P. 672–684.

Gu X.B., Yang X.J., Hua Z. et al. Effect of oxymatrine on specific cytotoxic T lymphocyte surface programmed death receptor-1 expression in patients with chronic hepatitis B // *Chin. Med. J. (Engl.)*. – 2012. – Vol. 125, N 8. – P. 1434–1438.

Gujar S.A., Jenkins A.K., Guy C.S. et al. Aberrant lymphocyte activation precedes delayed virus-specific T-cell response after both primary infection and secondary exposure to hepadnavirus in the woodchuck model of hepatitis B virus infection // *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82, N 14. – P. 6992–7008.

Guo L., Zhang Z., Green K., Stanton R.C. Suppression of interleukin-1 beta-induced nitric oxide production in RINm5F cells by inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase // *Biochemistry.* – 2002. – Vol. 41, N 50. – P. 14726–14733.

Hadden J.W. Immunodeficiency and cancer: prospects for correction // *Int. Immunopharmacol.* – 2003. – Vol. 3, N 8. – P. 1061–1071.

Hadzic T., Li L., Cheng N., Walsh S.A. et al. The role of low molecular weight thiols in T lymphocyte proliferation and IL-2 secretion // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, N 12. – P. 7965–7972.

Häger M., Cowland J.B., Borregaard N. Neutrophil granules in health and disease // *J. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 268, N 1. – P. 25–34.

Hamed Y.B., Medjdoub A., Kara B.M. et al. 5,6-dihydro-2H-pyranones and 5,6-dihydro-2H-pyridones and their derivatives modulate in vitro human T lymphocyte function // *Mol. Cell. Biochem.* – 2012. – Vol. 360, N 1–2. – P. 23–33.

Hamelin R., Borie C., Raphaël M., Duval A. An immunogenic process leading to cancer in the context of immunodeficiency // *Cell Cycle.* – 2004. – Vol. 3, N 9. – P. 1130–1132.

Hamilton N.M., Dawson M., Fairweather E.E. et al. Novel steroid inhibitors of glucose 6-phosphate dehydrogenase // *J. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 55, N 9. – P. 4431–4445.

Hardwick J.M., Chen Y.B., Jonas E.A. Multipolar functions of BCL-2 proteins link energetics to apoptosis // *Trends Cell. Biol.* – 2012. – Vol. 22, N 6. – P. 318–328.

Harwood D.T., Darlow B.A., Cheah F.C. et al. Biomarkers of neutrophil-mediated glutathione and protein oxidation in tracheal aspirates from preterm infants: association with bacterial infection // *Pediatr. Res.* – 2011. – Vol. 69, N 1. – P. 28–33.

Hawkins P.T., Davidson K., Stephens L.R. The role of PI3Ks in the regulation of the neutrophil NADPH oxidase // *Biochem. Soc. Symp.* – 2007. – Vol. 74. – P. 59–67.

Hawley J.A., Burke L.M. Carbohydrate availability and training adaptation: effects on cell metabolism // *Exerc. Sport Sci. Rev.* – 2010. – Vol. 38, N 4. – P. 152–160.

Hickner J. Intranasal steroids for acute sinusitis? // *Ann. Fam. Med.* – 2012. – Vol. 10, N 3. – P. 196–197.

Higgins L.G., Hayes J.D. Mechanisms of induction of cytosolic and microsomal glutathione transferase (GST) genes by xenobiotics and pro-inflammatory agents // *Drug Metab. Rev.* – 2011. – Vol. 43, N 2. – P. 92–137.

Hou X.H., Huang Y.M., Mi Y.Y. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene C677T Polymorphism and Lung Cancer: an Updated Meta-analysis // *Asian. Pac. J. Cancer. Prev.* – 2012. – Vol. 13, N 5. – P. 2025–2029.

Hsieh J.Y., Chen S.H., Hung H.C. Functional roles of the tetramer organization of malic enzyme // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284, N 27. – P. 18096–18105.

Huilan Y., Cui Z., Jianyong F et al. Construction of, and T-helper (Th)1/Th2 immune responses to, a herpes simplex virus type 2 glycoprotein D-cytotoxic T-lymphocyte epitope DNA vaccine // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2010. – Vol. 35, N 5. – P. 537–542.

Ishijima S., Takashima T., Ikemura T., Izutani Y. Gymnemic acid interacts with mammalian glycerol-3-phosphate dehydrogenase // *Mol. Cell. Biochem.* – 2008. – Vol. 310, N 1–2. – P. 203–208.

Jung K.H., Park J.W. Suppression of mitochondrial NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase activity enhances curcumin-induced apoptosis in HCT116 cells // *Free Radic. Res.* – 2011. – Vol. 45, N 4. – P. 431–438.

Karlsson A., Dahlgren C. Assembly and activation of the neutrophil NADPH oxidase in granule membranes // *Antioxid. Redox Signal.* – 2002. – Vol. 4, N 1. – P. 49–60.

Kiank C., Entleutner M., Fürll B. et al. Stress-induced immune conditioning affects the course of experimental peritonitis // *Shock.* – 2007. – Vol. 27, N 3. – P. 305–311.

Kil I.S., Jung K.H., Nam W.S., Park J.W. Attenuated mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase activity enhances EGCG-induced apoptosis // *Biochimie.* – 2011. – Vol. 93, N 10. – P. 1808–1815.

Kim S.Y., Park J.W. Modulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression by mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase // *Biochimie.* – 2010. – Vol. 92, N 12. – P. 1908–1913.

Knappskog S., Lønning P.E. P53 and its molecular basis to chemoresistance in breast cancer // *Expert. Opin. Ther. Targets.* – 2012. – Vol. 16, Suppl. 1. – P. S23–S30.

Kota V., Rai P., Weitzel J.M. et al. Role of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 in mouse sperm capacitation // *Mol. Reprod. Dev.* – 2010. – Vol. 77, N 9. – P. 773–783.

Kovaru H., Kovaru F., Pav M. et al. Effect of mitogen lectin on lymphocyte or brain cortex cell activation // *Neuro. Endocrinol. Lett.* – 2010. – Vol. 31, N 3. – P. 325–329.

Kubota K., Saiwai H., Kumamaru H. et al. Myeloperoxidase exacerbates secondary injury by generating highly reactive oxygen species and mediating neutrophil recruitment in experimental spinal cord injury // *Spine.* – 2012. – Vol. 37, N 16. – P. 1363–1369.

Kuo C.C., Lin K.Y., Hsu Y.J. et al. The roles of Tyr(91) and Lys(162) in general acid-base catalysis in the pigeon NADP⁺-dependent malic enzyme // *Biochem. J.* 2008. – Vol. 411, N 3. – P. 467–473.

Laborde E. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death // *Cell. Death Differ.* – 2010. – Vol. 17, N 9. – P. 1373–1380.

Lannutti F., Marrone A., Re N. Binding of GSH conjugates to π -GST: a cross-docking approach // *J. Mol. Graph. Model.* – 2012. – Vol. 32. – P. 9–18.

Le Gall J.-R., Lemeshow S., Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study // *JAMA.* – 1993. – Vol. 270. – P. 2957–2963.

Lee K.M., Kang D., Clapper M.L. et al. CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms, smoking, and lung cancer risk in a pooled analysis among Asian populations // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2008. – Vol. 17, N 5. – P. 1120–1126.

Lee S.H., Park E., Park Y.K. Glutathione S-transferase m1 and t1 polymorphisms and susceptibility to oxidative damage in healthy Korean smokers // *Ann. Nutr. Metab.* – 2010. – Vol. 56, N 1. – P. 52–58.

Lencesova L., Krizanova O. IP(3) receptors, stress and apoptosis // *Gen. Physiol. Biophys.* – 2012. – Vol. 31, N 2. – P. 119–130.

Li M., Li C., Allen A. et al. The structure and allosteric regulation of glutamate dehydrogenase // *Neurochem. Int.* – 2011. – Vol. 59, N 4. – P. 445–455.

Li M., Li C., Allen A. et al. The structure and allosteric regulation of mammalian glutamate dehydrogenase // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2012. – Vol. 519, N 2. – P. 69–80.

Li W., Yue W., Zhang L. et al. Polymorphisms in GSTM1, CYP1A1, CYP2E1, and CYP2D6 are associated with susceptibility and chemotherapy response in non-small-cell lung cancer patients // *Lung.* – 2012. – Vol. 190, N 1. – P. 91–98.

Linder M.M., Wacha H., Feldmann U. et al. Der Mannheimer Peritonitis-Index. Ein Instrument zur intraoperativen Prognose der Peritonitis // *Chirurg.* – 1987. – N 58. – P. 84–91.

Lu M., Banerjee S., Saidel G.M., Yu X. Regulation of cytosolic and mitochondrial oxidation via malate-aspartate shuttle: an observation using dynamic ¹³C NMR spectroscopy // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2011. – Vol. 701. – P. 185–192.

Lu Y.Z., Wu C.C., Huang Y.C. et al. Neutrophil priming by hypoxic preconditioning protects against epithelial barrier damage and enteric bacterial translocation in intestinal ischemia/reperfusion // *Lab. Invest.* – 2012. – Vol. 92, N 5. – P. 783–796.

Lum L.G., Thakur A. Targeting T cells with bispecific antibodies for cancer therapy // *BioDrugs.* – 2011. – Vol. 25, N 6. – P. 365–379.

Magori E., Nakamura M., Inoue A. et al. Malate dehydrogenase activities are lower in some types of peripheral leucocytes of dogs and cats with type 1 diabetes mellitus // *Res. Vet. Sci.* – 2005. – Vol. 78, N 1. – P. 39–44.

Mailloux R.J., Harper M.E. Glucose regulates enzymatic sources of mitochondrial NADPH in skeletal muscle cells; a novel role for glucose-6-phosphate dehydrogenase // *FASEB J.* – 2010. – Vol. 24, N 7. – P. 2495–2506.

Makinson A., Pujol J.L., Le Moing V. et al. Interactions between cytotoxic chemotherapy and antiretroviral treatment in human immunodeficiency virus-infected patients with lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* – 2010. – Vol. 5, N 4. – P. 562–571.

Mali Y., Zisapel N. A novel decoy that interrupts G93A-superoxide dismutase gain of interaction with malate dehydrogenase improves survival in an amyotrophic lateral sclerosis cell model // *J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 52, N 17. – P. 5442–5448.

Mansour-Ghanaei F., Mehrdad M., Mortazavi S. et al. Decreased serum total T3 level in hepatitis B and C related cirrhosis by severity of liver damage // *Ann. Hepatol.* – 2012. – Vol. 11, N 5. – P. 667–671.

Marcoux J., Man P., Petit-Haertlein I. P47phox molecular activation for assembly of the neutrophil NADPH oxidase complex // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285, N 37. – P. 28980–28990.

Mariscalco M.M. Heparin-binding protein: another neutrophil granule protein ...another new biomarker? // *Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 39, N 4. – P. 910–911.

Markovic J., García-Gimenez J.L., Gimeno A. et al. Role of glutathione in cell nucleus // *Free Radic. Res.* – 2010. – Vol. 44, N 7. – P. 721–733.

Mason E.F., Rathmell J.C. Cell metabolism: an essential link between cell growth and apoptosis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – Vol. 1813, N 4. – P. 645–654.

Matheny H.E., Deem T.L., Cook-Mills J.M. Lymphocyte migration through monolayers of endothelial cell lines involves VCAM-1 signaling via endothelial cell NADPH oxidase // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164, N 12. – P. 6550–6559.

Matsuda T., Takahashi-Yanaga F., Yoshihara T. et al. Dictyostelium differentiation-inducing factor-1 binds to mitochondrial malate dehydrogenase and inhibits its activity // *J. Pharmacol. Sci.* – 2010. – Vol. 112, N 3. – P. 320–326.

McAlister-Henn L. Ligand binding and structural changes associated with allostery in yeast NAD(+)-specific isocitrate dehydrogenase // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2012. – Vol. 519, N 2. – P. 112–117.

McKenna M.C. Glutamate dehydrogenase in brain mitochondria: do lipid modifications and transient metabolon formation influence enzyme activity? // *Neurochem. Int.* – 2011. – Vol. 59, N 4. – P. 525–533.

McLain A.L., Szweda P.A., Szweda L.I. α -Ketoglutarate dehydrogenase: a mitochondrial redox sensor // *Free Radic. Res.* – 2011. – Vol. 45, N 1. – P. 29–36.

McLeod I.X., Jia W., He Y.W. The contribution of autophagy to lymphocyte survival and homeostasis // *Immunol. Rev.* – 2012. – Vol. 249, N 1. – P. 195–204.

Miguel A., Orero M., Simon R. et al. Automated neutrophil morphology and its utility in the assessment of neutrophil dysplasia // *Lab. Hematol.* – 2007. – Vol. 13, N 3. – P. 98–102.

Mitchell M.J., King M.R. Shear-Induced Resistance to Neutrophil Activation via the Formyl Peptide Receptor // *Biophys. J.* – 2012. – Vol. 102, N 8. – P. 1804–1814.

Miyake N., Chikumi H., Takata M. et al. Rapamycin induces p53-independent apoptosis through the mitochondrial pathway in non-small cell lung cancer cells // *Oncol. Rep.* – 2012. – Vol. 28, N 3. – P. 848–854.

Miyazaki D., Tominaga T., Yakura K. et al. Conjunctival mast cell as a mediator of eosinophilic response in ocular allergy // *Mol. Vis.* – 2008. – Vol. 22, N 14. – P. 1525–1532.

Moon J.L., Kim S.Y., Shin S.W., Park J.W. Regulation of brefeldin A-induced ER stress and apoptosis by mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 417, N 2. – P. 760–764.

Morre M., Beq S. Interleukin-7 and immune reconstitution in cancer patients: a new paradigm for dramatically increasing overall survival // *Target Oncol.* – 2012. – Vol. 7, N 1. – P. 55–68.

Mulukutla B.C., Khan S., Lange A., Hu W.S. Glucose metabolism in mammalian cell culture: new insights for tweaking vintage pathways // *Trends Biotechnol.* – 2010. – Vol. 28, N 9. – P. 476–484.

Murata M., Narahara S., Umezaki K. et al. Liver cell specific targeting by the preS1 domain of hepatitis B virus surface antigen displayed on protein nanocages // *Int. J. Nanomedicine.* – 2012. – Vol. 7. – P. 4353–4362.

Nagler C.R. Introduction to special issue on food allergy // *Semin. Immunopathol.* – 2012. – Vol. 34, N 5. – P. 615–616.

Niedźwiedź A., Nicpoń J., Zawadzki M. et al. The influence of road transport on the activities of glutathione reductase, glutathione peroxidase, and glutathione-S-transferase in equine erythrocytes // *Vet. Clin. Pathol.* – 2012. – Vol. 41, N 1. – P. 123–126.

Niedźwiedzka-Rystwej P., Deptuła W. Lymphocyte subpopulations and apoptosis of immune cells in rabbits experimentally infected with a strain of the RHD virus having a variable haemagglutination capacity // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2012. – Vol. 15, N 1. – P. 43–49.

Ninfali P., Cuppini C., Marinoni S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase support antioxidant enzymes in nerves and muscles of rats during nerve regeneration // *Restor. Neurol. Neurosci.* – 1996. – Vol. 10, N 2. – P. 69–75.

Nordenfelt P., Tapper H. The role of calcium in neutrophil granule-phagosome fusion // *Commun. Integr. Biol.* – 2010. – Vol. 3, N 3. – P. 224–226.

Nuutila J. The novel applications of the quantitative analysis of neutrophil cell surface FcγRI (CD64) to the diagnosis of infectious and inflammatory diseases // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 23, N 3. – P. 268–274.

Oakes P.W., Patel D.C., Morin N.A. et al. Neutrophil morphology and migration are affected by substrate elasticity // *Blood.* – 2009. – Vol. 114, N 7. – P. 1387–1395.

Ohe Y., Maruyama H., Deguchi I. et al. An adult case of pneumocephalus and pneumococcal meningitis associated with the sphenoid sinusitis // *Intern. Med.* – 2012. – Vol. 51, N 9. – P. 1129–1131.

Oldenburg J., Kraggerud S.M., Cvancarova M. et al. Cisplatin-induced long-term hearing impairment is associated with specific glutathione S-transferase genotypes in testicular cancer survivors // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25, N 6. – P. 708–714.

Ortega-Camarillo C., González-González A., Vergara-Onofre M. et al. Changes in the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in granulosa cells during follicular atresia in ewes // *Reproduction.* – 2009. – Vol. 137, N 6. – P. 979–986.

Oshimi Y., Miyazaki S. Fas antigen-mediated DNA fragmentation and apoptotic morphologic changes are regulated by elevated cytosolic Ca²⁺ level // *J. Immunol.* – 1995. – Vol. 154, N 2. – P. 599–609.

Otsuki T., Kanno T., Fujita Y. et al. A3 adenosine receptor-mediated p53-dependent apoptosis in Lu-65 human lung cancer cells // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2012. – Vol. 30, N 1. – P. 210–220.

Ozlü F., Satar M., Menziletoğlu-Yıldız S. et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity, structure, molecular characteristics and role in neonatal hyperbilirubinemia in cord blood in Cukurova region // *Turk. J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 53, N 2. – P. 130–136.

Paccani S.R., Dal Molin F., Benagiano M. et al. Suppression of T-lymphocyte activation and chemotaxis by the adenylate cyclase toxin of *Bordetella pertussis* // *Infect. Immun.* – 2008. – Vol. 76, N 7. – P. 2822–2832.

Pallardó F.V., Markovic J., García J.L., Viña J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation // *Mol. Aspects Med.* – 2009. – Vol. 30, N 1 – 2. – P. 77–85.

Pańczyszyn A., Wieczorek M. Role of CEACAM in neutrophil activation // *Postepy. Hig. Med. Dosw.* – 2012. – Vol. 66. – P. 574–582.

Papayannopoulos V., Metzler K.D., Hakkim A., Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps // *J. Cell. Biol.* – 2010. – Vol. 191, N 3. – P. 677–691.

Pérez A., Centeno V.A., Tolosa de Talamoni N.G. Molecular mechanisms involved in the enhancement of mitochondrial malate dehydrogenase activity by calcitriol in chick intestine // *J. Nutr. Biochem.* – 2010. – Vol. 21, N 12. – P. 1232–1237.

Phillipson M., Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation // *Nat. Med.* – 2011. – Vol. 17, N 11. – P. 1381–1390.

Pliarchopoulou K., Voutsinas G., Papaxoinis G. et al. Correlation of CYP1A1, GSTP1 and GSTM1 gene polymorphisms and lung cancer risk among smokers // *Oncol Lett.* – 2012. – Vol. 3, N 6. – P. 1301–1306.

Prokopowicz Z., Marcinkiewicz J., Katz D.R., Chain B.M. Neutrophil myeloperoxidase: soldier and statesman // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* – 2012. – Vol. 60, N 1. – P. 43–54.

Purvina M., Hoste A., Rossignol J.M., Lagaudrière-Gesbert C. Human hepatitis B viral e antigen and its precursor P20 inhibit T-lymphocyte proliferation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 417, N 4. – P. 1310–1315.

Ramnanan C.J., Storey K.B. Glucose-6-phosphate dehydrogenase regulation during hypometabolism // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 339, N 1. – P. 7–16.

Raza A., Yousaf W., Giannella R., Shata M.T. Th17 cells: interactions with predisposing factors in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease // *Expert Rev. Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 8, N 2. – P. 161–168.

Raza H. Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease // *FEBS J.* – 2011. – Vol. 278, N 22. – P. 4243–4251.

Reino D.C., Palange D., Feketeova E. et al. Activation of toll-like receptor 4 is necessary for trauma hemorrhagic shock-induced gut injury and polymorphonuclear neutrophil priming // *Shock*. – 2012. – Vol. 38, N 1. – P. 107–114.

Robbins D., Wittwer J.A., Codarin S. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 is downregulated during early skin tumorigenesis which can be inhibited by over-expression of manganese superoxide dismutase // *Cancer Sci*. – 2012. – Vol. 103, N 8. – P. 1429–1433.

Roemer K. Notch and the p53 clan of transcription factors // *Adv. Exp. Med. Biol*. – 2012. – Vol. 727. – P. 223–240.

Rosa L.F., de Almeida A.F., Safi D.A., Curi R. Thioglycollate stimulus modifies lymphocyte metabolism and proliferation. A comparison with lymphocyte activation by Walker 256 tumour implantation // *Cell. Biochem. Funct*. – 1993. – Vol. 11, N 4. – P. 251–255.

Rutter J., Winge D.R., Schiffman J.D. Succinate dehydrogenase – Assembly, regulation and role in human disease // *Mitochondrion*. – 2010. – Vol. 10, N 4. – P. 393–401.

Saheki T., Inoue K., Ono H. et al. Metabolomic analysis reveals hepatic metabolite perturbations in citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double-knockout mice, a model of human citrin deficiency // *Mol. Genet. Metab*. – 2011. – Vol. 104, N 4. – P. 492–500.

Sahin E., DePinho R.A. Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. – 2012. – Vol. 13, N 6. – P. 397–404.

Santa-Cecilia F.V., Santos G.B., Fuzissaki C.N. et al. 7-epiclusianone, the natural prenylated benzophenone, inhibits superoxide anions in the neutrophil respiratory burst // *J. Med. Food*. – 2012. – Vol. 15, N 2. – P. 200–205.

Saranac L., Zivanovic S., Bjelakovic B. et al. Why is the thyroid so prone to autoimmune disease? // *Horm. Res. Paediatr*. – 2011. – Vol. 75, N 3. – P. 157–165.

Scarrone S., Balestrino M., Frassoni F. et al. Sex differences in human lymphocyte Na,K-ATPase as studied by labeled ouabain binding // *Int. J. Neurosci*. – 2007. – Vol. 117, N 2. – P. 275–285.

Scatena R. Mitochondria and cancer: a growing role in apoptosis, cancer cell metabolism and dedifferentiation // *Adv. Exp. Med. Biol*. – 2012. – Vol. 942. – P. 287–308.

Schurich A., Khanna P., Lopes A.R. et al. Role of the coinhibitory receptor cytotoxic T lymphocyte antigen-4 on apoptosis-Prone CD8 T cells in persistent hepatitis B virus infection // *Hepatology*. – 2011. – Vol. 53, N 5. – P. 1494–1503.

Schuster D.P., Brody S.L., Zhou Z. et al. Regulation of lipopolysaccharide-induced increases in neutrophil glucose uptake // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. – 2007. – Vol. 292, N 4. – P. L845–L851.

Seth R., Ribeiro M., Romaschin A. et al. Occupational endotoxin exposure and a novel luminol-enhanced chemiluminescence assay of nasal lavage

neutrophil activation // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 127, N 1. – P. 272–275.

Shah D., Aggarwal A., Bhatnagar A. et al. Association between T-lymphocyte sub-sets apoptosis and peripheral blood mononuclear cells oxidative stress in systemic lupus erythematosus // *Free Radic. Res.* – 2011. – Vol. 45, N 5. – P. 559–567.

Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E. et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78, N 5. – P. 1025–1042.

Shi Q., Gibson G.E. Up-regulation of the mitochondrial malate dehydrogenase by oxidative stress is mediated by miR-743a // *J. Neurochem.* – 2011. – Vol. 118, N 3. – P. 440–448.

Shukla R.K., Kant S., Mittal B., Bhattacharya S. Polymorphism of cytochrome p450, glutathione-S-transferase and N-acetyltransferases: influence on lung cancer susceptibility // *Niger. J. Med.* – 2010. – Vol. 19, N 3. – P. 257–263.

Sidhu N.S., Delbaere L.T., Sheldrick G.M. Structure of a highly NADP+-specific isocitrate dehydrogenase // *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* – 2011. – Vol. 67, Pt. 10. – P. 856–869.

Simmonds M.J., Gough S.C. The search for the genetic contribution to autoimmune thyroid disease: the never ending story? // *Brief. Funct. Genomics.* – 2011. – Vol. 10, N 2. – P. 77–90.

Singh A., Zarembek K.A., Kuhns D.B., Gallin J.I. Impaired priming and activation of the neutrophil NADPH oxidase in patients with IRAK4 or NEMO deficiency // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 182, N 10. – P. 6410–6417.

Sireesha R., Laxmi S.G., Mamata M. et al. Total activity of glutathione-S-transferase (GST) and polymorphisms of GSTM1 and GSTT1 genes conferring risk for the development of age related cataracts // *Exp. Eye Res.* – 2012. – Vol. 98. – P. 67–74.

Snoep J.L., Arfman N., Yomano L.P. et al. Control of glycolytic flux in *Zymomonas mobilis* by glucose 6-phosphate dehydrogenase activity // *Biotechnol. Bioeng.* – 1996. – Vol. 51, N 2. – P. 190–197.

Sobti R.C., Kaur P., Kaur S. et al. Combined effect of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms on histological subtypes of lung cancer // *Biomarkers.* – 2008. – Vol. 13, N 3. – P. 282–295.

Sobti R.C., Sharma S., Joshi A. et al. Genetic polymorphism of the CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer susceptibility in a north indian population // *Mol. Cell Biochem.* – 2004. – Vol. 266, N 1–2. – P. 1–9.

Sotton B., Devaux A., Givaudan N. et al. Short-term uptake of microcystin-LR by *Coregonus lavaretus*: GST activity and genotoxicity // *Ecotoxicology.* – 2012. – Vol. 21, N 7. – P. 1788–1796.

Spanaki C., Plaitakis A. The role of glutamate dehydrogenase in mammalian ammonia metabolism // *Neurotox. Res.* – 2012. – Vol. 21, N 1. – P. 117–127.

Stanley C.A. Hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome: insights into the regulatory role of glutamate dehydrogenase in ammonia metabolism // *Mol. Genet. Metab.* – 2004. – Vol. 81, Suppl. 1. – P. S45–S51.

Stanton R.C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival // *IUBMB Life.* – 2012. – Vol. 64, N 5. – P. 362–369.

Stathatos N., Daniels G.H. Autoimmune thyroid disease // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2012. – Vol. 24, N 1. – P. 70–75.

Sugama K., Suzuki K., Yoshitani K. et al. IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise // *Exerc. Immunol. Rev.* – 2012. – Vol. 18. – P. 116–127.

Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters A.M., Chilvers E.R. Neutrophil kinetics in health and disease // *Trends Immunol.* – 2010. – Vol. 31, N 8. – P. 318–324.

Sun T., Hu Z., Shen H., Lin D. Genetic polymorphisms in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and cancer: the dialectical nature of subtle human immune dysregulation // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69, N 15. – P. 6011–6014.

Szabò I., Bock J., Jekle A. et al. A novel potassium channel in lymphocyte mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, N 13. – P. 12790–12798.

Takano T., Azuma N., Hashida Y. et al. T. B-cell activation in cats with feline infectious peritonitis (FIP) by FIP-virus-induced B-cell differentiation/survival factors // *Arch. Virol.* – 2009. – Vol. 154, N 1. – P. 27–35.

Tamaki Y., Arai T., Sugimura H. et al. Association between cancer risk and drug-metabolizing enzyme gene (CYP2A6, CYP2A13, CYP4B1, SUL1A1, GSTM1, and GSTT1) polymorphisms in cases of lung cancer in Japan // *Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2011. – Vol. 26, N 5. – P. 516–522.

Tandogan B., Sengezer C., Ulusu N.N. In vitro effects of imatinib on glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase // *Folia Biol. (Praha).* – 2011. – Vol. 57, N 2. – P. 57–64.

Tew K.D., Manevich Y., Grek C. et al. The role of glutathione S-transferase P in signaling pathways and S-glutathionylation in cancer // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51, N 2. – P. 299–313.

Timofeeva M., Kropp S., Sauter W. et al. Genetic polymorphisms of MPO, GSTT1, GSTM1, GSTP1, EPHX1 and NQO1 as risk factors of early-onset lung cancer // *Int. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 127, N 7. – P. 1547–1561.

Toldi G., Kaposi A., Zsembery Á. et al. Human Th1 and Th2 lymphocytes are distinguished by calcium flux regulation during the first 10 min of lymphocyte activation // *Immunobiology.* – 2012. – Vol. 217, N 1. – P. 37–43.

Tome M.E., Johnson D.B., Samulitis B.K. et al. Glucose 6-phosphate dehydrogenase overexpression models glucose deprivation and sensitizes lym-

phoma cells to apoptosis // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2006. – Vol. 8, N 7–8. – P. 1315–1327.

Torok S., Hegedus B., Laszlo V. et al. Lung cancer in never smokers // *Future Oncol.* – 2011. – Vol. 7, N 10. – P. 1195–1211.

Toussiro E. The IL23/Th17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases // *Inflamm. Allergy Drug. Targets.* – 2012. – Vol. 11, N 2. – P. 159–168.

Tsang W.Y., Amyes T.L., Richard J.P. A substrate in pieces: allosteric activation of glycerol 3-phosphate dehydrogenase (NAD⁺) by phosphite dianion // *Biochemistry.* – 2008. – Vol. 47, N 16. – P. 4575–4582.

Uriarte S.M., Rane M.J., Luerman G.C. et al. Granule exocytosis contributes to priming and activation of the human neutrophil respiratory burst // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 187, N 1. – P. 391–400.

van Raam B.J., Sluiter W., de Wit E. et al. Mitochondrial membrane potential in human neutrophils is maintained by complex III activity in the absence of supercomplex organization // *PLoS One.* – 2008. – Vol. 3, N 4. – P. E2013.

Vincent J.L., Moreno R., Takala J. et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine // *Intensive Care Med.* – 1996. – Vol. 22, N 7. – P. 707–710.

Vineis P., Veglia F., Anttila S. et al. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and lung cancer: a pooled analysis of gene-gene interactions // *Biomarkers.* – 2004. – Vol. 9, N 3. – P. 298–305.

Vyas S., Roberti I. Lymphocyte ATP immune cell function assay in pediatric renal transplants: is it useful? // *Transplant. Proc.* – 2011. – Vol. 43, N 10. – P. 3675–3678.

Waggiallah H., Alzohairy M. The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics // *N. Am. J. Med. Sci.* – 2011. – Vol. 3, N 7. – P. 344–347.

Wang C.L., Lu C.Y., Pi C.C. et al. Extracellular polysaccharides produced by *Ganoderma formosanum* stimulate macrophage activation via multiple pattern-recognition receptors // *BMC Complement. Altern. Med.* – 2012. – Vol. 12, N 1. – P. 119.

Wang Q., Yu L., Yu C.A. Cross-talk between mitochondrial malate dehydrogenase and the cytochrome bc1 complex // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285, N 14. – P. 10408–10414.

Wang X., Jiang X. Mdm2 and MdmX partner to regulate p53 // *FEBS Lett.* – 2012. – Vol. 586, N 10. – P. 1390–1396.

Wei H.B., Hu J., Shang L.H. et al. A meta-analytic review of ERCC1/MDR1 polymorphism and chemosensitivity to platinum in patients with

advanced non-small cell lung cancer // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2012. – Vol. 125, N 16. – P. 2902–2907.

Wenzlaff A.S., Cote M.L., Bock C.H. et al. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms, environmental tobacco smoke exposure and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study // *Carcinogenesis*. – 2005. – Vol. 26, N 2. – P. 395–401.

Wise D.R., Ward P.S., Shay J.E. et al. Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2011. – Vol. 108, N 49. – P. 19611–19616.

Wise D.R., Ward P.S., Shay J.E. et al. Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2011. – Vol. 108, N 49. – P. 19611–19616.

Witko-Sarsat V., Pederzoli-Ribeil M., Hirsch E. et al. Regulating neutrophil apoptosis: new players enter the game // *Trends Immunol*. – 2011. – Vol. 32, N 3. – P. 117–124.

Wolf K., Beimforde N., Falzarano D. et al. The Ebola virus soluble glycoprotein (sGP) does not affect lymphocyte apoptosis and adhesion to activated endothelium // *J. Infect. Dis*. – 2011. – Vol. 204, Suppl. 3. – P. S947–S952.

Won E.J., Shin J.H., Lim S.C. et al. Molecular Identification of *Schizophyllum commune* as a Cause of Allergic Fungal Sinusitis // *Ann. Lab. Med*. – 2012. – Vol. 32, N 5. – P. 375–379.

Wright H.L., Moots R.J., Bucknall R.C., Edwards S.W. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases // *Rheumatology (Oxford)*. – 2010. – Vol. 49, N 9. – P. 1618–1631.

Wu M.M., Sun H., Nan Q. Expression and clinical significance of PLUNC protein in nasal polyp and chronic sinusitis tissue // *Ear. Nose Throat. J*. – 2012. – Vol. 91, N 7. – P. 282–285.

Xia Y.J., Zeng D., Xia L.M. et al. Role of monokine induced by interferon- γ in liver injury induced by hepatitis B virus in mice // *J. Viral. Hepat*. – 2012. – Vol. 19, N 7. – P. 509–518.

Xiang M., Yin L., Li Y. et al. Hemorrhagic shock activates lung endothelial reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase via neutrophil NADPH oxidase // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol*. – 2011. – Vol. 44, N 3. – P. 333–340.

Xu J., Han J., Long Y.S. et al. Malic enzyme is present in mouse islets and modulates insulin secretion // *Diabetologia*. – 2008. – Vol. 51, N 12. – P. 2281–2289.

Yan J., Meng X., Wancket L.M. et al. Glutathione reductase facilitates host defense by sustaining phagocytic oxidative burst and promoting the development of neutrophil extracellular traps // *J. Immunol*. – 2012. – Vol. 188, N 5. – P. 2316–2327.

Yang W.B., Chen E.Q., Bi H.X. et al. Different models in predicting the short-term prognosis of patients with hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure // *Ann. Hepatol.* – 2012. – Vol. 11, N 3. – P. 311–319.

Yano T., Haro A., Shikada Y. et al. Non-small cell lung cancer in never smokers as a representative 'non-smoking-associated lung cancer': epidemiology and clinical features // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 16, N 4. – P. 287–293.

Yawn B.P., Fenton M.J. Summary of the NIAID-Sponsored Food Allergy Guidelines // *Am. Fam. Physician.* – 2012. – Vol. 86, N 1. – P. 43–50.

Yeh J.I., Chinte U., Du S. Structure of glycerol-3-phosphate dehydrogenase, an essential monotopic membrane enzyme involved in respiration and metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105, N 9. – P. 3280–3285.

Yeo W.K., Carey A.L., Burke L. et al. Fat adaptation in well-trained athletes: effects on cell metabolism // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2011. – Vol. 36, N 1. – P. 12–22.

Yuan W., Wang Y., Heinecke J.W., Fu X. Hypochlorous acid converts the gamma-glutamyl group of glutathione disulfide to 5-hydroxybutyrolactam, a potential marker for neutrophil activation // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284, N 39. – P. 26908–26917.

Zhang W., Modén O., Tars K., Mannervik B. Structure-based redesign of GST A2-2 for enhanced catalytic efficiency with azathioprine // *Chem. Biol.* – 2012. – Vol. 19, N 3. – P. 414–421.

Zhao G., Zhao Y., Wang X., Xu Y. Knockdown of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) following cerebral ischemic reperfusion: The pros and cons // *Neurochem. Int.* – 2012. – Vol. 61, N 2. – P. 146–155.

Zheng J., Yates S.P., Jia Z. Structural and mechanistic insights into the bifunctional enzyme isocitrate dehydrogenase kinase/phosphatase AceK // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* – 2012. – Vol. 367, N 1602. – P. 2656–2668.

Zheng P.P., van der Weiden M., van der Spek P.J. et al. Isocitrate dehydrogenase 1R132H mutation in microglia/macrophages in gliomas: Indication of a significant role of microglia/macrophages in glial tumorigenesis // *Cancer Biol. Ther.* – 2012. – Vol. 13, N 10. – P. 836–839.

Zhou H., Wu Z., Ma L. et al. Assessing immunologic function through CD4 T-lymphocyte adenosine triphosphate levels by ImmuKnow assay in Chinese patients following renal transplantation // *Transplant. Proc.* – 2011. – Vol. 43, N 7. – P. 2574–2578.

Zwang Y., Oren M., Yarden Y. Consistency test of the cell cycle: roles for p53 and EGR1 // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72, N 5. – P. 1051–1054.

Научное издание

Савченко Андрей Анатольевич

Борисов Александр Геннадьевич

Основы клинической иммунометаболически

Редактор Т.А. Никитина

Допечатная подготовка

Сибирская издательская фирма «Наука» РАН. 630007, Новосибирск,
ул. Коммунистическая, 1.