

ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Л.М. Куртасова^{1,2}, Н.А. Шакина², Т.В. Лубнина²

¹ ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия

² КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия

Резюме. Цель исследования: изучение активности и корреляционных связей НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей раннего возраста с рецидивирующими респираторными инфекциями при гипертрофии глоточной миндалины и бронхообструктивном синдроме. *Методы.* Обследовано 89 детей в возрасте 1–3 лет с рецидивирующими респираторными инфекциями, из них 35 детей с гипертрофией глоточной миндалины (ГГМ) и 54 ребенка с бронхообструктивным синдромом (БОС). Контрольную группу составили 20 здоровых детей аналогичного возрастного диапазона. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови изучали билюминесцентным методом по А.А. Савченко и Л.М. Сунцовой (1989). *Результаты.* У детей раннего возраста с рецидивирующими респираторными инфекциями установлены изменения ферментного статуса лимфоцитов периферической крови. Выявлено повышение рибозо-5-фосфата и НАДФ-зависимых пластических процессов, увеличение субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, снижение анаэробной реакции лактатдегидрогеназы, что предполагает ингибирование терминальных стадий гликолиза, уменьшение роли малатаспартатного шунта в энергетике клетки, понижение оттока субстратов с реакций цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена и снижение уровня активности глутатионредуктазы. Обнаружены особенности перестройки ферментного профиля лимфоцитов периферической крови в зависимости от типа осложнения респираторной инфекции. У детей с гипертрофией глоточной миндалины наблюдалось увеличение переноса продуктов липидного катаболизма на гликолиз, повышенный уровень активности малик-фермента, шунтирующего реакции цикла трикарбоновых кислот и являющегося основным в ключевой реакции липидного анаболизма и снижение наработки пирувата. У детей с БОС отмечалось снижение уровня активности глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, приводящей к понижению субстратной стимуляции гликолиза за счет продуктов липидного катаболизма, уменьшение шунтирования медленных реакций цикла Кребса и увеличение притока интермедиатов аминокислотного обмена на окислительно-восстановительные реакции цикла трикарбоновых кислот. Перестройка ферментного профиля лимфоцитов крови зависела от типа осложнения респираторной инфекции (ЛОР-патология или БОС). Корреляционный анализ выявил особенности взаимосвязей между показателями активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины и БОС, определяемые количеством, направленностью и силой корреляционных связей. *Заключение.* Дети с рецидивирующими респираторными инфекциями нуждаются в метаболической терапии, направленной на восстановление внутриклеточных обменных процессов в иммуноцитах. Метаболическая коррекция должна быть дифференцированной.

Ключевые слова: респираторная инфекция, гипертрофия глоточной миндалины, бронхообструктивный синдром, лимфоцит, фермент, корреляция.

Адрес для переписки:

Куртасова Людмила Михайловна
660022, Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1,
Красноярский государственный медицинский университет
В.Ф. Войно-Ясенецкого.
Тел.: 8 (391) 220-13-95. Факс: 8 (391) 221-16-38.
E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

Contacts:

Lyudmila M. Kurtasova
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizana
Zheleznyaka str., 1, Krasnoyarsk State Medical University
named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky.
Phone: +7 (391) 220-13-95. Fax: +7 (391) 221-16-38.
E-mail: kurtasova.lm@mail.ru

Библиографическое описание:

Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Лубнина Т.В. Изменения метаболизма лимфоцитов крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 515–523. doi: 10.15789/2220-7619-MCI-803

Citation:

Kurtasova L.M., Shakina N.A., Lubnina T.V. Metabolic changes in peripheral blood lymphocytes from children with recurrent respiratory infections // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 515–523. doi: 10.15789/2220-7619-MCI-803

© Куртасова Л.М., Шакина Н.А., Лубнина Т.В., 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MCI-803>

METABOLIC CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES FROM CHILDREN WITH RECURRENT RESPIRATORY INFECTIONS

Kurtasova L.M.^{a,b}, Shakina N.A.^b, Lubnina T.V.^b

^a Krasnoyarsk State Medical University named after professor V.F. Voyno-Yasenetsky of the Ministry of Health of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

^b Krasnoyarsk Regional Center for Prevention and Control of AIDS, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Objective: to examine activity and correlative relations for peripheral blood lymphocyte NAD (P)-dependent dehydrogenases in young children with recurrent respiratory infections with hypertrophy of the pharyngeal tonsils and bronchial obstructive syndrome. *Methods.* 89 children, aged 1–3 years, with recurrent respiratory infections were examined, including 35 children with hypertrophy of pharyngeal tonsils (HPT) and 54 children — with bronchial obstructive syndrome (BOS). Control group contained 20 age-matched healthy children. Activity and relations for peripheral blood lymphocyte for NAD(P)-dependent dehydrogenases were assessed by using bioluminescent method proposed by A.A. Savchenko and L.N. Suntsova (1989). *Results.* It was found that children with recurrent respiratory infections displayed altered enzyme status in peripheral blood lymphocytes. In particular, activity ribose-5-phosphate- and NAD(P)-dependent metabolic events as well as substrate flux via the tricarboxylic acid cycle were elevated that was paralleled with decreased lactate dehydrogenase anaerobic reaction, thereby implicating a role for malate-aspartate shunt in the energy turnover, substrate efflux from the tricarboxylic acid cycle into amino acid metabolic pathways as well as activity of glutathione reductase. Moreover, features of altered enzymatic profile in peripheral blood lymphocytes were uncovered, which depended on type of complication related to respiratory infection. In addition, children with hypertrophy of pharyngeal tonsils were featured with increased influx of lipid catabolism products into glycolysis, elevated level of malic enzyme activity and decreased pyruvate production. However, children with bronchial obstructive syndrome were found to have decreased glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity resulting in lowered shunting activity of slow reactions in Krebs cycle and increased influx of amino acid metabolism intermediates into the tricarboxylic acid cycle. Reshaping of enzymatic profile in peripheral blood lymphocytes depended on type of complications coupled to respiratory infections (ENT-pathology or BOS syndrome). A correlation analysis revealed features of relationship between parameters of NAD(P)-dependent dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes found in children with hypertrophy of pharyngeal tonsils and bronchial obstructive syndrome marked by quantity, modality and power of correlative links. *Conclusion.* Children with the recurrent respiratory infections require metabolic therapy aimed at restoring intracellular pathology-driven metabolic processes in immune cells.

Key words: respiratory infection, hypertrophy of the pharyngeal tonsil, broncho-obstructive syndrome, lymphocyte, enzyme, correlation.

Введение

Респираторные вирусные инфекции являются наиболее частыми заболеваниями, которые занимают ведущее место в структуре инфекционных болезней и составляют до 80% от всех случаев инфекционной патологии у детей. При этом более уязвимой группой являются дети раннего возраста [4, 6, 11].

Специфическая иммунная защита дыхательных путей включает, в первую очередь, глоточное лимфоидное кольцо и ассоциированную с бронхами лимфоидную ткань, в которых происходит первый контакт с антигеном.

Глоточная миндалина, входящая в состав лимфоэпителиального кольца Вальдейера, занимает важное место в онтогенетическом становлении иммунной системы ребенка [2, 4]. Ведущую роль в возникновении воспаления глоточной миндалины у детей играет высокая нагрузка вирусными антигенами. Практически каждый ребенок раннего возраста с часто рецидивирующими респираторными инфекциями имеет клинические проявления хронического аденоидита [3, 8].

В настоящее время наблюдается тенденция к росту числа детей, у которых респираторные

вирусные инфекции сопровождаются бронхо-обструктивным синдромом (БОС). В то же время у детей, которые часто (более 6 раз в году) болеют респираторными инфекциями, БОС регистрируется чаще [1, 13].

На сегодняшний день не требуется особых доказательств того факта, что в обеспечении гомеостатических реакций организма, его адаптивных возможностей одно из первых мест занимает иммунная система.

При этом более ранние признаки изменений иммунной системы следует, очевидно, искать на уровне клетки, где начинается формирование иммунного ответа. В то же время проявление функциональных возможностей любой клетки, в том числе лимфоцита — основного структурно-функционального элемента иммунной системы — в значительной степени определяется внутриклеточным метаболизмом.

Известно, что лимфоциты снабжены рецепторами, воспринимающими нейромедиаторы, гормоны, регуляторные пептиды [12]. Поскольку лимфоциты несут рецепторы к подавляющему большинству регуляторных веществ, их метаболические реакции могут в определенной степени отражать общие тенденции обменных процессов в организме. В связи с чем Р.П. Нарциссов

и назвал лимфоциты «ферментативным зеркалом организма» [7].

К числу наиболее информативно отражающих основные параметры внутриклеточного метаболизма лимфоцитов относятся окислительно-восстановительные ферменты (дегидрогеназы). Это класс ферментов, катализирующих реакции окисления — восстановления, локализующихся в разных компартментах клетки и участвующих в различных метаболических путях [10].

Необходимо отметить, что именно у детей раннего возраста можно ожидать наиболее значимые метаболические изменения в клетке, связанные с бурными темпами процессов роста, дифференцировки, с одной стороны, и быстротой возникновения обменных нарушений на клеточном уровне вследствие воздействия патогенных факторов, с другой.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования явилось изучение активности и корреляционных связей НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови при гипертрофии глоточной миндалины (ГГМ) и БОС у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями.

Материалы и методы

Проведено открытое клиническое исследование. Обследовано 89 детей в возрасте от одного года до трех лет с рецидивирующими респираторными инфекциями, из них 35 детей с ГГМ II–III степени и 54 ребенка с БОС. Частота респираторных инфекций составляла 6 раз и более в году. Диагноз ГГМ был установлен на основании жалоб, клинической (затруднение носового дыхания, дыхание через рот, отделяемое из носа, храп в ночное время) и эндоскопической (наличие аденоидных вегетаций II–III степени в полости носоглотки) картины. Бронхообструктивный синдром клинически проявлялся симптомокомплексом, характеризующимся приступообразным кашлем, экспираторной одышкой и приступами удушья. Критерием включения детей в исследование являлось отсутствие терапии в течение месяца, предшествующего обследованию. У всех обследованных детей получено согласие родителей на включение в исследование и обработку персональных данных.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых детей аналогичного возрастного диапазона.

Исследования проводили на базе Красноярского краевого центра профилактики и борьбы со СПИД.

Выделение мононуклеаров производили центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$)

по методу А. Воуим [15]. В дальнейшем 1 млн выделенных клеток замораживали в микропробирках и использовали для определения НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов биоломинесцентным методом [9]. Изучали показатели следующих оксидоредуктаз: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ, КФ 1.1.1.8), малик-фермента (НАДФМДГ, 1.1.1.40), НАД⁺- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (НАДЛДГ и НАДНЛДГ, КФ 1.1.1.27), НАД⁺- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДНМДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ⁺- и НАДФН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФНГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД⁺- и НАДН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДНГДГ, КФ 1.4.1.2), НАД⁺- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФИЦДГ, КФ 1.1.1.42) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2). Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10^4 клеток, где $1\text{Е} = 1 \text{ мкмоль/мин}$. Исследование проводили на ферментативной системе НАД(Ф)Н:ФМН оксидоредуктаза-люцифераза, изготовленной из очищенных методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из *Photobacterium leiognathi* и оксидоредуктазы из *Vibrio fischeri*. После смешивания биоломинесцентных реактивов и инкубационной пробы производили измерение свечения с помощью биоломинометра «БЛМ-8801» (Россия).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ «Statistica v. 6.0» (Stat Soft, Ins., США).

Вид распределения количественных признаков определялся с помощью критерия Колмогорова–Смирнова (с поправкой Лиллиефорса). Учитывая нормальное распределение признаков, результаты исследования количественных параметров в группах сравнения представлены в виде M — средней арифметической величины и ошибки средней арифметической (m). Оценка статистической значимости различий средних величин проводилась с использованием параметрического t -критерия Стьюдента. Проведена ранговая корреляция с использованием параметрического критерия Пирсона (r). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

Анализ показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими

ми респираторными инфекциями выявил повышение Г6ФДГ в 6,6 раза ($p < 0,001$) в группе детей с ГГМ и в 5,2 раза ($p < 0,001$) в группе детей с БОС по сравнению с величинами контрольной группы. Однонаправленно в сторону увеличения относительно контрольных показателей в наблюдаемых группах детей изменялись показатели активности дегидрогеназ митохондриального компартмента — НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и НАДМДГ (табл. 1, 2). Следует отметить статистически значимое снижение уровней активности НАДНЛДГ и НАДНМДГ в лимфоцитах крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями по сравнению с параметрами группы контроля (табл. 1, 2). В то же время в группе детей с БОС эти показа-

тели были более низкими, чем в группе детей с ГГМ. Так, показатели НАДНЛДГ в группе детей с ГГМ оказались в 2,7 раза ($p < 0,001$), а показатели НАДНМДГ — в 2,2 раза ($p < 0,001$) ниже, чем в контрольной группе; у детей с БОС — в 18,4 раза ($p < 0,001$) и в 13,2 раза ($p < 0,001$) соответственно.

Показатели активности ГР в лимфоцитах периферической крови в группе детей с ГГМ статистически значимо были ниже величин контрольной группы, в группе детей с БОС уровни активности данного фермента имели лишь тенденцию к понижению (табл. 1, 2).

Для ферментного статуса лимфоцитов периферической крови в группе детей с ГГМ было характерно увеличение показателей активности

Таблица 1. Показатели активности (мкЕ) НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины ($M \pm m$)

Table 1. Indicators of activity (мкЕ) NAD (P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes in children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil ($M \pm m$)

Показатель Indicator	Контрольная группа (n = 20) Control group (n = 20)	Группа с ГГМ (n = 35) Group with GGM (n = 35)	p
Г6ФДГ G6PDH	2,09±0,16	13,86±0,88	0,001
Г3ФДГ G3PDH	2,56±0,19	4,06±0,22	0,05
НАДЛДГ NADLDH	41,73±4,07	18,80±1,42	0,001
НАДМДГ NADMMDH	20,14±1,26	26,88±1,94	0,01
НАДФМДГ NADPMDH	5,16±0,47	7,56±0,42	0,01
НАДФГДГ NADPGDH	1,92±0,16	0,05±0,002	0,001
НАДГДГ NADGDH	6,22±0,51	6,87±0,85	0,001
НАДИЦДГ NADIDH	1,25±0,10	4,17±0,10	0,001
НАДФИЦДГ NADPIDH	10,22±1,04	16,04±1,78	0,01
НАДНЛДГ R-LDH	66,2±6,41	24,75±1,81	0,001
НАДНМДГ R-MDH	123,04±9,47	57,36±5,92	0,001
ГР GR	12,37±1,23	9,39±0,93	0,1 > p > 0,05
НАДНГДГ R-NADGDH	174,52±14,29	17,41±1,67	0,001
НАДФНГДГ R-NADPGDH	151,94±11,68	44,78±4,30	0,001

Примечание. p — статистически значимые различия с контрольной группой.

Note. p — statistically significant differences with the control group.

Таблица 2. Показатели активности (мкЕ) НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с бронхообструктивным синдромом ($M \pm m$)

Table 2. Indicators of activity (мкЕ) NAD (P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes in group of children with broncho-obstructive syndrome ($M \pm m$)

Показатель Indicator	Контрольная группа (n = 20) Control group (n = 20)	Группа с БОС (n = 54) Group with BOS (n = 54)	p
Г6ФДГ G6PDH	2,09±0,16	10,83±1,14	0,001
Г3ФДГ G3PDH	2,56±0,19	0,44±0,004	0,001
НАДЛДГ NADLDH	41,73±4,07	46,43±4,19	
НАДМДГ NADMMDH	20,14±1,26	34,52±3,64	0,001
НАДФМДГ NADPMDH	5,16±0,47	0,85±0,03	0,001
НАДФГДГ NADPGDH	1,92±0,16	1,86±0,11	0,001
НАДГДГ NADGDH	6,22±0,51	9,09±0,22	0,001
НАДИЦДГ NADIDH	1,25±0,10	18,29±0,34	0,001
НАДФИЦДГ NADPIDH	10,22±1,04	16,72±1,74	0,002
НАДНЛДГ R-LDH	66,2±6,41	3,60±0,27	0,001
НАДНМДГ R-MDH	123,04±9,47	9,34±0,87	0,001
ГР GR	12,37±1,23	1,71±0,15	0,001
НАДНГДГ R-NADGDH	174,52±14,29	4,73±0,64	0,001
НАДФНГДГ R-NADPGDH	151,94±11,68	35,96±3,62	0,001

Примечание. p — статистически значимые различия с контрольной группой.

Note. p — statistically significant differences with the control group.

ГЗФДГ и НАДФМДГ, в группе детей с БОС наблюдалось статистически значимое снижение показателей активности данных энзимов (табл. 1, 2).

Кроме того, только в группе детей с ГГМ в лимфоцитах крови статистически значимо по сравнению с показателями контроля снижалась активность аэробной реакции ЛДГ (табл. 1). Исследование активности глутаматдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями выявило снижение относительно параметров контрольной группы показателей активности обратных реакций НАДГДГ и НАДФГДГ как в группе детей с ГГМ, так и в группе с БОС (табл. 1, 2), повышение показателей активности НАДГДГ в 1,5 раза ($p < 0,001$) в группе детей с БОС и понижение в 38,4 раза ($p < 0,001$) активности НАДФГДГ в группе детей с ГГМ.

При оценке результатов корреляционного анализа наибольшее количество связей между показателями активности исследуемых ферментов в лимфоцитах периферической крови было установлено в группе детей с ГГМ (рис. 2) по сравнению с контрольной группой (рис. 1) и группой детей с БОС (рис. 3).

В группе детей с БОС достоверных коэффициентов корреляции между показателями

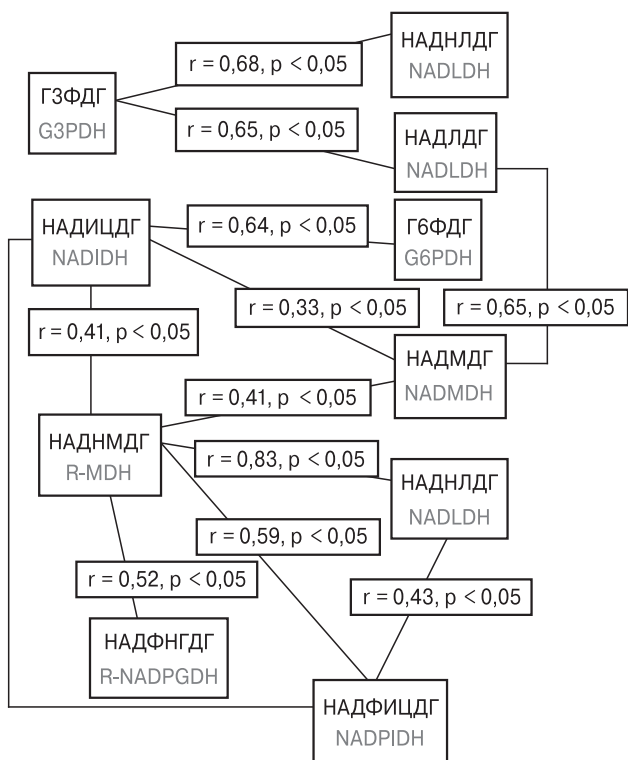


Рисунок 1. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в контрольной группе
 Figure 1. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in control group

активности ферментов лимфоцитов крови значительно меньше — всего 5 против 13 в группе детей с ГГМ и против 11 в контрольной группе, однако все они имели высокие коэффициенты корреляции (рис. 3).

Детальный анализ полученных данных показал, что в контрольной группе преобладали корреляционные связи средней силы (54,5%), сильные и слабые связи составляли 18,2 и 27,3% соответственно. В группе детей с ГГМ, также как и в контрольной группе, большинство корреляционных связей оказались средней силы (61,5%), в то же время отсутствовали слабые по силе корреляционные связи, сильные корреляционные связи составляли 38,5%. В группе детей с БОС между показателями активности ферментов лимфоцитов периферической крови наблюдались только сильные корреляционные связи (100%).

У детей с рецидивирующими респираторными инфекциями выявлены особенности характера взаимосвязей показателей активности метаболических ферментов лимфоцитов периферической крови.

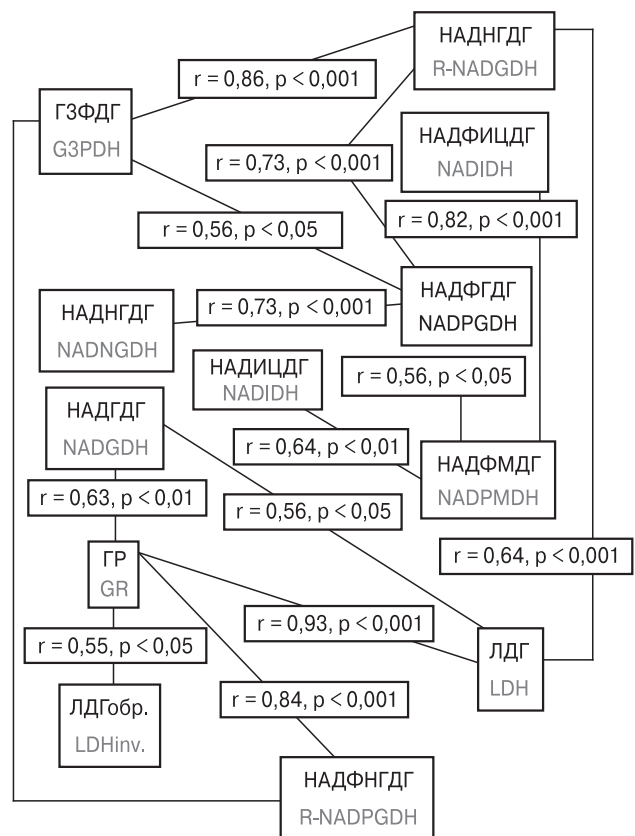


Рисунок 2. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в группе детей с гипертрофией глоточной миндалины
 Figure 2. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in group of children with hypertrophy of the pharyngeal tonsil

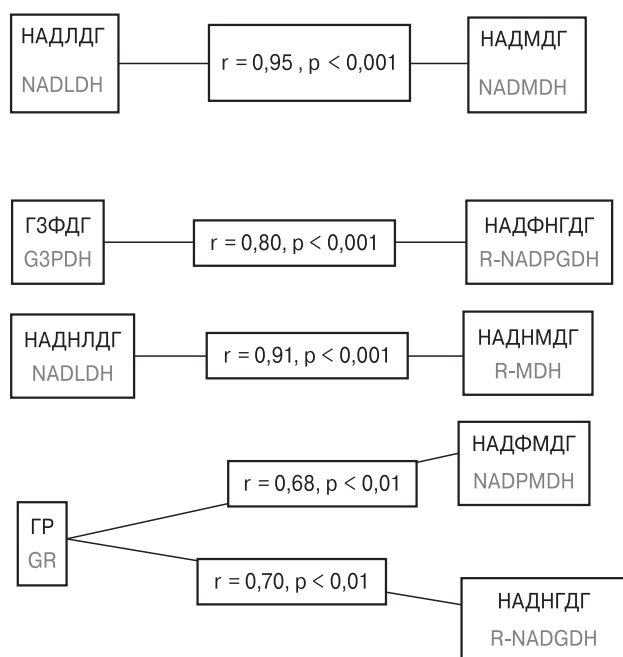


Рисунок 3. Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови в группе детей с бронхообструктивным синдромом

Figure 3. Correlations of activity NAD(P)-dependant dehydrogenases blood lymphocytes indicators in group of children with broncho-obstructive syndrome

Так, у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями обнаружены взаимосвязи ГР, НАДФМДГ, НАДНГДГ между собой и с другими исследуемыми нами ферментами, в то время как в контрольной группе данные энзимы полностью «выпадали» из системы корреляционных связей (рис. 1–3). В качестве различий следует указать утрату у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями корреляционных связей показателей активности Г6ФДГ. При этом в контрольной группе наблюдалась прямая корреляционная зависимость показателей активности Г6ФДГ с НАДИЦДГ ($r = 0,64, p < 0,05$).

Необходимо отметить, что корреляционная картина в группе детей с ГГМ отличается появлением многочисленных и разнообразных связей у глутаматдегидрогеназ и глутатионредуктазы (рис. 2) по сравнению с контрольной группой детей (рис. 1) и группой детей с БОС (рис. 3).

Обсуждение

При изучении состояния ферментного статуса лимфоцитов периферической крови у детей с ГГМ и с БОС выявлены изменения уровней активности исследуемых нами оксидоредуктаз. Так, обнаружено повышение активности Г6ФДГ, которая является иницирующим фер-

ментом пентозофосфатного пути (ПФП) и участвует в перераспределении части глюкозы с энергетических нужд клетки на пластические. В результате деятельности ферментов ПФП, в том числе Г6ФДГ, в больших количествах образуется НАДФН, необходимый для реакций биосинтеза липидов и для регенерации восстановленного глутатиона — важного эндогенного антиоксиданта. Кроме того, одним из продуктов ПФП является рибозо-5-фосфат [10, 20, 23, 24]. Следовательно, активация работы ПФП может увеличить способность клетки к синтезу нуклеотидов. В то же время увеличение интенсивности работы ПФП, несомненно, будет способствовать снижению в клетке количества глюкозы, доступной для использования в реакциях энергетического обмена. Таким образом, при повышенном оттоке глюкозо-6-фосфата в ПФП уровень реакций гликолиза будет снижен. Об этом свидетельствует установленное нами в лимфоцитах крови уменьшение активности анаэробной реакции ЛДГ, в ходе которой регенерируется НАД⁺, необходимый для циклической гликолитической оксидоредуктации. Возникающий недостаток цитозольного НАД⁺ может быть частично компенсирован активацией малат-аспартатного челночного механизма, в частности повышением уровня НАДНМДГ [5, 14]. При этом, в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями обнаружено снижение активности НАДНМДГ.

Лимфоциты являются клетками, где энергетические реакции определяются интенсивностью как анаэробных, так и аэробных процессов. Следует отметить, что цикл трикарбоновых кислот не только определяет интенсивность дыхательной цепи митохондрий (за счет наработки необходимых интермедиатов), но и является связующим звеном между белковым, углеводным и липидным обменами [10]. Состояние внутримитохондриальных процессов в лимфоцитах крови у наблюдаемых нами детей с рецидивирующими респираторными инфекциями характеризуется повышением активности НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ и НАДМДГ, что отражает увеличение субстратного потока как на начальных, так и терминальных стадиях цикла Кребса. В то же время в лимфоцитах периферической крови наблюдается снижение активности НАДНГДГ и НАДФНГДГ. По-видимому, высокая интенсивность работы дыхательной цепи и НАД-зависимых дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот ограничивают возможность использования НАДНГДГ и НАДФНГДГ для стимуляции реакций аминокислотного обмена.

Известно, что глутатионредуктаза в глутатион-зависимой антиоксидантной системе осуществляет реакцию восстановления окислен-

ного глутатиона, а также в определенной степени модулирует пролиферативную активность лимфоцитов [17, 21].

Понижение активности ГР в лимфоцитах периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями может привести к повышению интенсивности перекисных процессов в клетке и к снижению пролиферативной способности лимфоцитов.

Сравнительный анализ показал повышение активности ГЗФДГ в лимфоцитах периферической крови у детей с ГГМ, катализирующей ферментативную реакцию, которая может компенсировать отток субстратов с гликолиза. В результате увеличения активности ГЗФДГ повышается эффективность энергетического обмена и интенсивность работы глицерофосфатного челночного механизма, вследствие чего возрастает поток протонов от НАДН из цитоплазмы в митохондриальный компартмент клетки [5, 10, 16]. При этом активность ГЗФДГ, которая осуществляет перенос продуктов липидного катаболизма на реакции анаэробного окисления глюкозы в лимфоцитах периферической крови в группе детей с БОС значительно снижена. Также направленно в наблюдаемых нами группах детей в лимфоцитах периферической крови изменяется уровень активности НАДФМДГ. НАДФМДГ является ключевым ферментом в системе липидного анаболизма — через восстановление НАДФ⁺ принимает участие в реакциях катаболизма ксенобиотиков и осуществляет шунтирование медленных реакций цикла трикарбоновых кислот [18, 25]. Снижение активности НАДФМДГ в лимфоцитах крови у детей с БОС может привести к недостаточному образованию восстановительной формы цитоплазматического НАДФН и недостатку субстратов для биосинтеза жирных кислот, а это может способствовать снижению реакций липидного обмена в клетке. В связи с чем ингибирование ГЗФДГ в группе детей с БОС может быть связано с понижением реакций липидного анаболизма.

В то же время увеличение в лимфоцитах периферической крови активности малик-фермента (НАДФМДГ) в группе детей с ГГМ отражает активацию шунтирования медленных участков лимонного цикла и повышение использования липидов и жирных кислот в клеточном метаболизме.

Следует отметить понижение активности НАДФГДГ, одной из вспомогательных дегидрогеназ, подающих на цикл трикарбоновых кислот субстраты с аминокислотного обмена [19, 22], в лимфоцитах периферической крови у детей с ГГМ.

Кроме того, снижение активности аэробной реакции ЛДГ в лимфоцитах крови в данной группе детей отражает более полное потребление наработанного клеткой пирувата.

Повышение активности НАДФГДГ в лимфоцитах крови у детей с БОС свидетельствует о субстратной стимуляции цикла Кребса продуктами реакций аминокислотного обмена.

Корреляционный анализ выявил у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями в лимфоцитах периферической крови связи между показателями ферментативной активности как в одном компартменте клетки, так и разных метаболических путей. При этом наибольшее количество корреляционных связей наблюдалось в группе детей с ГГМ. Увеличение количества корреляционных связей между показателями активности внутриклеточных ферментов связывают с напряжением регуляторных систем, увеличивающих взаимозависимость между различными метаболическими путями и тем самым обеспечивающих более экономное расходование метаболитов [10].

В группе детей с БОС наблюдалось минимальное количество корреляционных связей между ферментными показателями. В то же время необходимо отметить, что все они были высокой прочностью. Уменьшение числа связей обеспечивает необходимый уровень «функциональной свободы» и возможность перестройки внутриклеточного обмена [7, 10].

Таким образом, резюмируя полученные результаты, можно констатировать, что у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями отмечается перестройка ферментного профиля лимфоцитов периферической крови, а также изменение силы и структуры корреляционных связей между показателями, отражающими особенности внутриклеточного метаболизма.

Заключение

Результаты проведенных исследований выявили изменения ферментного статуса лимфоцитов у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями. Учитывая высокую значимость метаболических реакций для функциональных возможностей клетки, сохранение метаболических изменений в лимфоцитах периферической крови в период клинической ремиссии, может являться одной из причин, способствующих рецидивирующему течению респираторных инфекций у детей, и диктует необходимость проведения метаболической терапии, направленной на восстановление внутриклеточных обменных процессов в иммунocyтах. Выявленные особенности ферментного профиля лимфоцитов периферической крови у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями от осложненного варианта заболевания — ЛОР-патология или БОС — свидетельствуют, что метаболическая коррекция несомненно должна быть дифференцированной.

Список литературы/References

1. Бабушкина А.В. Острые респираторные вирусные заболевания и бронхообструктивный синдром // Украинский медицинский журнал, 2011. Т. 81, № 1. С. 69–74. [Babushkina A.V. Acute respiratory viral diseases and broncho-obstructive syndrom. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal = Ukrainian Medical Journal*, 2011, vol. 81, no. 1, pp. 69–74. (In Russ.)]
2. Бениова С.Н., Таранова С.В., Бабко С.В. Клинико-иммунологические особенности хронических заболеваний назально-ассоциированной лимфоидной ткани у детей // Вестник оториноларингологии, 2014. № 4. С. 36–38. [Beniova S.N., Taranova S.V., Babko S.V. Specific clinical and immunological features of chronic diseases of the nasal-associated lymphoid tissue in the children. *Vestnik otorinolaringologii = Herald of Otorhinolaryngology*, 2014, no. 4, pp. 36–38. (In Russ.)]
3. Бешапочный С.Б., Гасюк Ю.А., Лобурец В.В., Вахтина А.Б. Мезанизмы местной защиты слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух // Вестник оториноларингологии. 2013. № 4. С. 44–47. [Beshapochny S.B., Gasyuk Y.A., Loburetz V.V., Vakhtina A.B. Mezanisms of local protection of the mucous membrane oft he nasal cavity and paranasal sinuses. *Vestnik otorinolaringologii = Herald of Otorhinolaryngology*, 2013, no. 4, pp. 44–47. (In Russ.)]
4. Борисенко Г.Н., Носуля Е.В., Никулин И.В. Клинико-эпидемиологические аспекты заболеваний верхних дыхательных путей у детей с рецидивирующей респираторной инфекцией // Российская ринология. 2014. Т. 22, № 4. С. 38–42. [Borisenko G.N., Nosulya E.V., Nikulin I.V. Upper respiratory tract diseases in children with recurrent respiratory infection: Clinical and epidemiological aspects. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2014, vol. 22, no. 4, pp. 38–42. (In Russ.)]
5. Инжеваткин Е.В., Савченко А.А., Слепов Е.В., Хлебопрос Р.Г. Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов мышей после введения $1 \cdot 10^4$ клеток асцитной карциномы Эрлиха // Сибирское медицинское обозрение. 2014. № 1. С. 25–30. [Inzhevatkina E.V., Savchenko A.A., Slepov E.V., Khlebopros R.G. Activity of NAD(P)-dependent mice dehydrogenases lymphocyte after inject $1 \cdot 10^4$ Ehrlich ascites tumor cells. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*, 2014, no. 1, pp. 25–30. (In Russ.)]
6. Карпова Л.С., Смородинцева Е.А., Сысоева Т.И., Столярова Т.П., Поповцева Н.М., Столяров К.А., Даниленко Д.М., Цыбалова Л.М. Распространенность Р.С.-вирусной инфекции и других ОРВИ не гриппозной этиологии у детей и взрослых в регионах России в 2014–2016 годах // Эпидемиология. Вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 2. С. 16–26. [Karpova L.S., Smorodintseva E.A., Sysoeva T.I., Stolyarova T.P., Popovtseva N.M., Stolyarov K.A., Danilenko D.M., Tsybalova L.M. The spread of RS-virus infection and other ARVI not influenza etiology in children and adults in the regions of Russia from 2014 to 2016. *Epidemiologiya. Vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 16–26. (In Russ.)]
7. Нарциссов Р.П. Прогностические возможности клинической цитохимии // Советская педиатрия. Вып. 2. М.: Медицина, 1984. С. 267–275. [Narcissov R.P. Prognostic possibilities of clinical cytochemistry. In: *Soviet Pediatrics*. No. 2. Moscow: Medicine, 1984, pp. 267–275. (In Russ.)]
8. Очиллов Р.Т. Современные данные о проблеме лимфоэпителиального глоточного кольца // Российская оториноларингология. 2014. № 1. С. 169–171. [Ochilov R.T. New data on the problem lymph epithelial pharyngeal ring. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2014, no. 1, pp. 169–171. (In Russ.)]
9. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высококчувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биолюминесцентным методом // Лабораторное дело. 1989. № 11. С. 23–25. [Savchenko A.A., Suntsova L.N. Higly sensitive determination of the dehydrogenase activity in peripheral blood lymphocytes using a bioluminescent method. *Laboratornoe delo = Laboratory Medicine*, 1989, no. 11, pp. 23–25. (In Russ.)]
10. Савченко А.А., Борисов А.Г. Основы клинической иммунометабономики. Новосибирск: Наука, 2012. 263 с. [Savchenko A.A., Borisov A.G. Basis of the clinical immunometabolomic. *Novosibirsk: Science*, 2012, 263 p. (In Russ.)]
11. Самсыгина Г.А. Современное лечение острых респираторных заболеваний у детей // Педиатрия. 2013. Т. 92, № 3. С. 38–42. [Samsigina G.A. Modern treatment of acute respiratory diseases in children. *Pediatriya = Pediatrics*, 2013, vol. 92, no. 3, pp. 38–42. (In Russ.)]
12. Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Серебряная Н.Б. Коррекция нарушений нейроиммунных взаимодействий при экспериментальной черепно-мозговой травме препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 2. С. 171–178. [Shanin S.N., Fomicheva E.E., Filatenkova T.A., Serebryanaya N.B. Correction disturbed neuroimmune interactions in experimental traumatic brain injury by means of recombinant interleukin 2. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, vol. 20, no. 2, pp. 171–178. doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-171-178 (In Russ.)]
13. Швец Е.А., Савватеева В.Г., Васильева Г.И. Клинико-иммунологические характеристики при синдроме бронхиальной обструкции у детей // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2010. Т. 93, № 2. С. 8–11. [Shvets E., Savvateeva V., Vasilieva G.I. Clinico-immunological characteristics in children with bronchial obstruction. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 2010, vol. 93, no. 2, pp. 8–11. (In Russ.)]
14. Abbrescia D.I., La Piana G., Lofrumento N.E. Malate-aspartate shuttle and exogenous NADH/cytochrome electron transport pathway as two independent cytosolic reducing eqivalent transfer systems. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2012, vol. 518, no. 2, pp. 157–163.
15. Boyum A. Isolation of lymphocytes from blood and marrow. *Scand. Clin. Lab. Invest.*, 1968, vol. 21, no. 97, pp. 77–80.
16. DeLa 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, no. 2, pp. 109–119. doi: 10.1089/thy.2011.0173
17. Diukic M.M., Jovanovic M.D., Ninkovic M., Stevanovic I., Ilic K. Curcic M., Vekic J. Protective role of glutathione reductase in paraquat induced neurotoxicity. *Chem. Biol. Interact.*, 2012, vol. 199, no. 2, pp. 74–86. doi: 10.1016/j.cbi.2012.05.008
18. Hsieh J.Y., Chen S.H., Hung H.C. Functional roles of the tetramer organization of malic enzyme. *J. Biol. Chem.*, 2009, vol. 284, no. 27, pp. 18096–18105. doi: 10.1074/jbc.M109.005082
19. Li M., Li C., Allen A., Stanley C.A., Smith T.J. The structure and allosteric regulation of mammalian glutamate dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2012, vol. 519, no. 2, pp. 69–80. doi: 10.1016/j.abb.2011.10.015

20. Norris M.G., Malys N. What is the true enzyme kinetics in the biological system? An investigation of macromolecular crowding effect upon enzyme kinetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 405, no. 3, pp. 388–392. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.01.037
21. Pallardo F.V., Markovic J., Garcia-Gimener J.L., Vina J. Role of nuclear glutathione as a key regulator of cell proliferation. *Mol. Aspects. Med.*, 2009, vol. 30, no. 1, pp. 77–85.
22. Spanaki C., Plaitakis A. The role of glutamate dehydrogenase in mammalian ammonia metabolism. *Neurotox. Res.*, 2012, vol. 21, no. 1, pp. 117–127. doi: 10.1007/s12640-011-9285-4
23. Stanton R.S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB Life*, 2012, vol. 64, no. 5, pp. 362–369. doi: 10.1002/iub.1017
24. 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, no. 2, pp. 57–64.
25. Wang B., Wang P., Zheng E., Chen X., Zhao H., Song P., Su R., Li X., Zhu G. Biochemical properties and physiological roles of NADP-dependent malic enzyme in *Escherichia coli*. *J. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 5, pp. 797–802. doi: 10.1007/s12275-011-0487-5

Авторы:

Куртасова Л.М., д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, г. Красноярск, Россия; врач аллерголог-иммунолог КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия;
Шакина Н.А., к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики отделения иммунологических и гематологических исследований КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия;
Лубнина Т.В., врач-педиатр лечебно-консультативного отделения КГАУЗ Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, г. Красноярск, Россия.

Authors:

Kurtasova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Clinical Immunology, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation; Allergologist-Immunologist, Krasnoyarsk Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Shakina N.A., PhD (Medicine), Pathologist, Laboratory of Immunological and Haematological Research, Krasnoyarsk Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation;
Lubnina T.V., Pediatrician, Medical Advisory Department, Regional Center for AIDS Prevention and Control, Krasnoyarsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 20.11.2018
Отправлена на доработку 20.05.2019
Принята к печати 26.11.2019

Received 20.11.2018
Revision received 20.05.2019
Accepted 26.11.2019