

**На правах рукописи**

**РАГИНЕНЕ Ирина Геннадьевна**

**ЗАВИСИМОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ  
ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОТ ИСХОДНОГО  
ВЕГЕТАТИВНОГО ТОНУСА ОРГАНИЗМА**

**14. 00. 16 – патологическая физиология**

**14. 00. 36 – аллергология и иммунология**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

**Томск - 2003**

Работа выполнена в Красноярской медицинской академии  
(г.Красноярск)

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор Шилов Сергей Николаевич  
доктор медицинских наук Камзалакова Наталья Ивановна

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор Дыгай Александр Михайлович  
доктор медицинских наук Кологривова Елена Николаевна

**Ведущая организация:**

ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (г.Красноярск)

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2003 г., в \_\_\_ часов на заседании  
диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском  
государственном медицинском университете (634050, г. Томск,  
Московский тракт,2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке  
Сибирского государственного медицинского университета (634050,  
г. Томск, пр. Ленина,107)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2003 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета, д.м.н.

Бражникова Н.А

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы:** Проблема нейрогуморальной регуляции иммунного ответа становится все более актуальной для современной медицины (Абрамов В.В., 1991-1995; Девойно Л.И с соавт., 1993; Борисов Л.Б., Смирнова А. М., 1994; Nomoto Y., 1993-1994). Изучение вопросов интеграции иммунной и других гомеостатических системам организма приобрело особую значимость в связи с отмечающимся во всем мире увеличением числа иммунопатологических состояний (Абрамов В.В., 1996-1998; Крыжановский Г.Н., 1998; Старченко А. А., 2001).

Среди гомеостатических систем организма важная, если не решающая, роль принадлежит вегетативной нервной системе. Тяжелые вегетативные расстройства по существу несовместимы с жизнью. Для регулирования функций внутренних органов и обмена веществ ВНС использует два функционально различных отдела – симпатический и парасимпатический. При повышении тонуса симпатического отдела осуществляется мобилизация энергетических субстратов, формируется готовность организма к ответу на внешние раздражение, тогда как активация парасимпатического ее отдела приводит к накоплению энергетических ресурсов и интенсификации пластических реакций (Зайчик А.Ш. с соавт., 1999; Чумаков В.И. 2000).

Как строма, так и паренхима лимфоидных органов имеют богатое представительство из симпатического отдела ВНС. Катехоламины и глюкокортикостероды обладают способностью непосредственного влияния на иммунные процессы через пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток (Schlesinger L., Arevalo M., 1995; Ackerman K.D., Madden K.S., 1991-1994) и через специфические рецепторы на клеточной мембране (Чумаков В.И., 2000; Fujii N. et al., 1998; Davis P.B., 1990; Haden G.R., 1970; Uchiyama M., 1992). Гиперкатехоламинемия вызывает активацию процессов перекисного окисления липидов с последующим повреждением биологических мембран и нарушением жизнедеятельности клетки (Корнева Е.А. с соавт., 1988; Brisseau G.F., 1994; McNurlan M.A., 1996). Глюкокортикостероиды также обладают способностью непосредственно воздействовать на иммунокомпетентные клетки через активацию в них реакций катаболизма и изменения функционального состояния мембранных структур (Пашенко П.С., 1993; Fouhil A.F., 1993; Sarantos P., 1994).

Влияние ацетилхолина – нейромедиатора парасимпатического отдела ВНС на иммунологические процессы доказано рядом фактов. Так, в процессе иммунизации экспериментальных животных выявляются изменения в его содержании ; установлено увеличение секреции иммуноглобулина G под действием агонистов ацетилхолина (Brink P.R., Walkot B., 1994); на Т-, В лимфоцитах и макрофагах выявлены холинэргические

рецепторы мускаринового типа (Хаитов Р.М. с соавт., 2000); холинэргическая система наравне с цитокинами способна осуществлять контроль и регуляцию иммунной функции (Fujii T., 2001; Kawashima K., 2000); ацетилхолин влияет на созревание Т-лимфоцитов, ингибируя апоптоз тимоцитов (Rinner I. et al., 1998, 1999). Тесное взаимодействие вегетативной нервной и иммунной систем подтверждается и способностью иммунокомпетентных клеток к синтезу как катехоламинов, так и ацетилхолина, и возможностью секреции нейромедиаторов во внеклеточную среду (Rinner I. et al., 1998; Fujii T., 2001; Kawashima K., 2000).

Исследованиями, проведенными к настоящему времени, показана выраженная зависимость функциональных возможностей лимфоцитов от внутриклеточного метаболизма (Буланова Е.Г. с соавт., 1994; Робинсон М.В. с соавт., 1993; Труфакин В.А. с соавт., 1989, 1995; Yang L.C. et al., 1996). Наряду с этим доказано, что ферментопатии вызывают поражение как клеточного, так и гуморального звеньев иммунной системы, приводя к развитию иммунодефицитных состояний.

Изменения состояния мембранных структур иммунокомпетентных клеток, зависящие от физико-химических свойств и состава компонентов мембран, оказывают значительное влияние на их функциональные возможности (Hashimoto A., Oka T., 1997; Saunders R.M. et al., 1986). Нарушения структурной организации мембраны клетки являются одним из механизмов, приводящих к развитию иммунопатологических состояний (Лозовой В.П. с соавт., 1988; Somer H. et al., 1992).

Наличие общеизвестной нейроэндокринной регуляции систем организма проявляется и по отношению к иммунному реагированию на антигенные воздействия. Однако, имеющиеся в настоящее время данные литературы не позволяют в полной мере представить механизмы влияния нейроэндокринной регуляции на структурно-метаболические параметры лимфоцитов, в дальнейшем определяющие функциональные особенности иммунокомпетентных клеток и иммунной системы в целом.

Поэтому несомненный интерес представляет выявление особенностей структурно-метаболических параметров лимфоцитов и функционального состояния иммунной системы, зависящих от регуляторных влияний вегетативной нервной системы.

**Цель работы:** исследовать механизмы регуляции вегетативной нервной системой структурно-метаболических параметров лимфоцитов и функциональных особенностей иммунитета и на этой основе выявить факторы, формирующие предрасположенность к инфекционным респираторным заболеваниям или к аллергическим реакциям.

**Основные задачи исследования:**

1. Оценить показатели иммунного статуса у лиц двух групп: с превалированием

симпатических или парасимпатических влияний.

2. Изучить влияние исходного вегетативного тонуса на активность внутриклеточных ферментов и липидный спектр лимфоцитов периферической крови обследованных.

3. Оценить влияние исходного вегетативного тонуса на иммунный статус и структурно-метаболические параметры лимфоцитов у лиц, имеющих в анамнезе частые длительные респираторные заболевания инфекционной этиологии или эпизоды аллергических реакций.

4. Выявить регуляторные, метаболические и иммунологические механизмы формирования индивидуальных особенностей иммунологической реактивности и критерии предрасположенности человека к инфекционным респираторным заболеваниям или к аллергическим реакциям.

**Научная новизна.** Впервые по результатам комплексного исследования установлены регуляторные влияния отделов вегетативной нервной системы на показатели иммунитета и структурно-метаболические параметры лимфоцитов человека.

Впервые в результате комплексной оценки показателей иммунитета и метаболических параметров лимфоцитов установлено, что преобладание тонуса парасимпатического отдела ВНС сопровождается повышенной функциональной активностью иммунокомпетентных клеток за счет интенсификации пластических процессов, что в дальнейшем предрасполагает к развитию атопии. Доминирование же тонуса симпатического отдела, обуславливает депрессию синтетических и активацию энергетических процессов, что способствует развитию инфекционного синдрома.

В результате исследования впервые выявлены критерии, позволяющие по характеру вегетативной регуляции организма и особенностям внутриклеточного обмена лимфоцитов прогнозировать варианты иммунного реагирования человека.

#### **Практическая значимость.**

По результатам проведенных исследований установлены механизмы регуляторных влияний вегетативной нервной системы на метаболические параметры лимфоцитов крови и функциональное состояние иммунной системы, что дополняет фундаментальные знания о взаимодействии нейроэндокринной и иммунной систем. Выяснение этих механизмов позволило выявить критерии индивидуальной предрасположенности человека к различным типам иммунного реагирования, клинически проявляющихся в виде инфекционного синдрома или атопии.

Разработан способ прогноза развития atopического синдрома. Получена приоритетная справка №2002120759 на изобретение «Способ прогноза развития

атопического синдрома», позволяющий индивидуализировать комплекс лечебно-профилактических мероприятий.

Результаты настоящего исследования используются в лекционном курсе на кафедрах патологической физиологии и клинической иммунологии, а также при обучении курсантов ФУВ КрасГМА по специальностям «Клиническая патофизиология» и «Аллергология и иммунология».

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Вегетативная нервная система осуществляет контроль за эффективностью иммунных механизмов саногенеза через регуляцию функционального состояния клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунной системы.

2. Уровень активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов и их липидный спектр зависят от доминирования симпатических или парасимпатических влияний вегетативной нервной системы.

3. Сдвиг метаболизма лимфоцитов преимущественно в сторону энергетических или пластических процессов, обусловленный влиянием вегетативной нервной системы, является фактором патогенеза в развитии инфекционного синдрома или атопического феномена, соответственно.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации и полученные результаты доложены и обсуждены на заседаниях Краевого научно-практического общества иммунологов (2001; 2002); Краевого общества невропатологов (2002); VI Всероссийской научной конференции с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2002).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 111 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения с обсуждением полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 17 таблиц и 11 рисунков. Список литературы представлен 304 источниками, из которых – 166 отечественных и 138 зарубежных авторов.

Работа выполнена в рамках комплексной программы по исследованию различных аспектов течения инфекционно-воспалительного процесса, выполняемой кафедрами патофизиологии (зав. кафедрой профессор Шилов С.Н.) и клинической иммунологии (зав. кафедрой профессор Булыгин Г.В.) Красноярской государственной медицинской академии (ректор – профессор Прохоренков В.И.). Исследования проведены на базе

центра «Семья и здоровье» (главный врач – Климова З.А.) и Красноярской краевой клинической больницы (главный врач – заслуженный врач РФ Маштаков Б.П.).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для реализации поставленных задач было обследовано 127 человек в возрасте 21-40 лет, не имевших хронической патологии и не болевших какими-либо заболеваниями в течение двух месяцев, предшествовавших обследованию.

Все обследованные, по преобладанию у них тонуса симпатического или парасимпатического отделов ВНС, были разделены на группы: САС (n=71) и ПСО (n=56), соответственно.

При анализе анамнестических данных установлено, что 28 человек из числа всех обследованных имели проявления инфекционного синдрома (группа часто длительно болеющих – ЧДБ) – они 3 и более раз в году переносили заболевания верхних дыхательных путей. У 27 человек – отмечались в анамнезе различные аллергические реакции (группа с атопическим феноменом – АФ).

У всех больных проводилось определение показателей гемо- и лейкограммы, оценка клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунной системы.

В соответствии с общепринятыми рекомендациями (Вейн А.М., Соловьева А.Д., 1981), при обследовании пациентов учитывались следующие физиологические параметры: вегетативный индекс Кердо, минутный объем крови непрямым способом Лилье-Штрандера и Цандера, индекс стресса по Гаркави Л.Х. (табл.1). Кроме того, определялся характер регуляции ВНС других систем организма по дермографизму, потливости, реакции зрачков.

Фенотип лимфоцитов обследованных лиц оценивался методом не прямой флуоресценции с мышиными моноклональными антителами на люминесцентном микроскопе «Люмам И-1». На лимфоцитах с использованием моноклональных антител ЗАО «Сорбент» определялось наличие молекул различных CD-рецепторов: CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (цитотоксические Т-клетки), CD19 (В-лимфоциты).

Концентрация сывороточных иммуноглобулинов А, М, G определялась по методике G.Manchihi et al. (1965). Содержание общего IgE в сыворотке крови оценивалось с помощью моноклональных антител согласно инструкции по применению иммуноферментной тест-системы АОЗТ «Биоиммуноген» (г. Москва). Определение циркулирующих иммунных комплексов проводилось после инкубации сыворотки крови с раствором ПЭГ-6000 и последующим учетом результатов на фотоэлектроколориметре.

Изучение спонтанной и индуцированной хемилюминесценции гранулоцитов крови

осуществлялось по методике P.De Soli et al. (1983). В качестве активатора индуцированной хемилюминесценции использовался опсонизированный зимозан. Наиболее информативным и легко определяемым, с нашей точки зрения, было время выхода на пик показателя индуцированной хемилюминесценции (ХЛ), которое и анализировалось в работе.

Таблица 1

**Физиологические параметры обследованных лиц с наличием инфекционного синдрома (ЧДБ) или феномена атопии (АФ) в анамнезе**

Параметры	ЧДБ (n=28)	АФ (n=27)
Индекс Кердо	8,02± 0,84	-11,51± 0,51***
Индекс стресса	0,38± 0,01	0,64± 0,02***
Минутный объем крови, л	4054,14±89,70	3168,80±53,40***

Примечание: здесь и далее \*- P<0,05, \*\* - P<0,01, \*\*\* - P<0,001

Одновременно с забором крови для иммунологических исследований у всех больных забиралась кровь для выделения лимфоцитов и определения в них параметров липидного спектра и активности внутриклеточных ферментов.

Изучение липидного спектра лимфоцитов периферической крови проводилось методом тонкослойной хроматографии с экстракцией липидов из клеток по методу J.Folch et al. (1957). Определялись следующие фракции липидов: фосфолипиды (ФЛ), холестерин (ХЛ), свободные жирные кислоты (СЖК), триацилглицериды (ТАГ), эфиры холестерина (ЭХ), их соотношения (ХОЛ/ФЛ, СЖК/ТАГ).

Активность внутриклеточных ферментов в общей популяции лимфоцитов периферической крови определялась биолюминесцентным методом с бактериальной люциферазой (Савченко А.А., Сунцовой Л.Н., 1989) и вычислялась по наработке восстановленного или окисленного кофактора в избыточно обогащенной субстратом среде. Определялись внутриклеточные НАД(Ф)-зависимые ферменты: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (Г3ФДГ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), малатдегидрогеназы (НАДМДГ и НАДФМДГ), глутамат- и изоцитратдегидрогеназы (НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ), а также глутатионредуктаза (ГР). Показатели активности ферментов рассчитывались в мкЕД/10<sup>4</sup> клеток.

Результаты проведенных исследований обработаны на ПЭВМ IBM PC/AT с применением статистического анализа, используемых в биологии и медицине. Учитывались и анализировались следующие основные параметры: среднее

арифметическое значение (M), ошибка среднего арифметического (m). После нахождения группового среднего и его ошибки проводилась оценка достоверности различий между показателями каждой группы, которая определялась при помощи t- критерия Стьюдента.

При анализе данных использовался и метод однофакторного дисперсионного анализа, позволяющий определить степень влияния какого-либо фактора на величину исследуемых показателей, а также силу влияния этого признака на показатели (по Плохинскому А.Н., 1970).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке гемо- и лейкограммы, иммунного статуса 127 обследованных нами лиц, все параметры находились в пределах нормы, установленной для жителей города Красноярск и центральных районов Красноярского края (Г.В.Булыгин с соавт., 1998).

Однако при сравнении иммунологических показателей в обследованных группах (ПСО и САС) выявлены определенные особенности, зависящие от типа вегетативной регуляции. Клинико-лабораторные параметры в группе с преобладанием симпатических влияний характеризуются, по сравнению с параметрами группы ПСО, достоверно более высоким содержанием лейкоцитов ( $P < 0,01$ ) и процентом нейтрофилов. У обследованных группы САС отмечается менее высокий процент агранулоцитарных клеток: лимфоцитов ( $P < 0,001$ ) и моноцитов ( $P < 0,05$ ), а также эозинофилов (табл.2).

**Таблица 2**

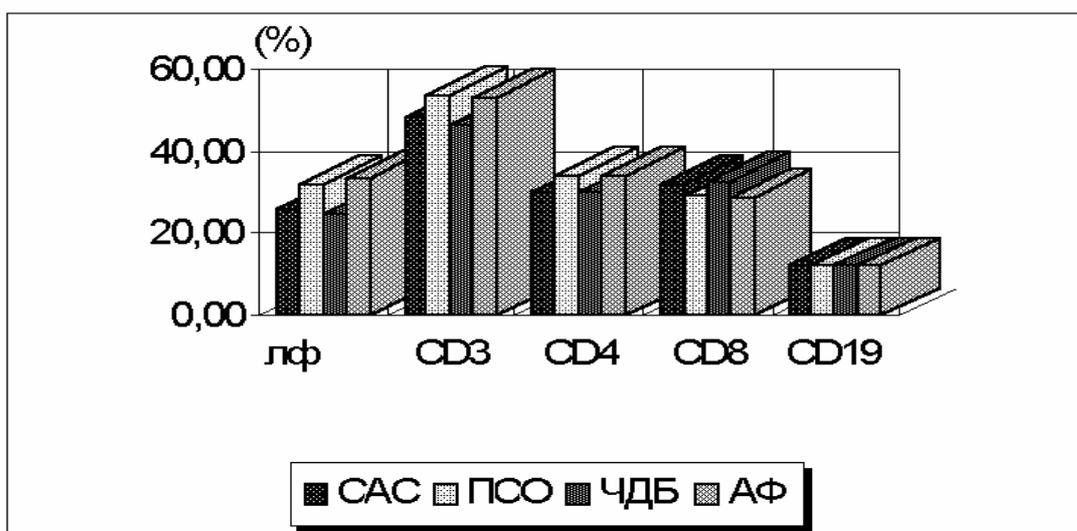
### Показатели периферической крови лиц с преобладанием симпатической (САС) или парасимпатической (ПСО) регуляции

Показатели	САС (n=71)	ПСО (n=56)
<b>L, мкл</b>	6100,00±106,16	5651,79±122,53**
<b>Hb, г/л</b>	122,21±0,94	123,29±2,17
<b>СОЭ, мм/ч</b>	12,18±0,69	12,18±0,43
<b>Лимфоциты, %</b>	26,18±0,47	32,30±0,62***
<b>П/я нейтрофилы, %</b>	3,08±0,14	2,59±0,16*
<b>С/я нейтрофилы, %</b>	62,48±0,50	54,36±0,64***
<b>Эозинофилы, %</b>	2,58±0,13	3,96±0,20***
<b>Моноциты, %</b>	5,63±0,22	6,79±0,32*
<b>ЛИИ</b>	0,69±0,03	0,35±0,02***
<b>Возраст, лет</b>	28,41±0,76	27,38±0,92

Анализ лабораторных показателей выявил различия в иммунном статусе (табл.3)

исследуемых групп. У лиц с доминированием симпатического отдела ВНС отмечалась относительная и абсолютная лимфопения ( $P < 0,001$ ), снижение абсолютного содержания Т-лимфоцитов. Имелись и особенности распределения иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов: в группе САС определялся достоверно меньший процент CD4-лимфоцитов, а содержание CD8-лимфоцитов было повышено. Также в группе с доминированием симпатoadреналовой системы зафиксирован низкий иммунорегуляторный индекс. Относительное содержание В-лимфоцитов значительно не различалось в обеих группах.

При оценке показателей иммунного статуса установлено, что у лиц с инфекционным синдромом относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов определялось меньшим, чем в группе обследованных с атопией в анамнезе. Уровни указанных показателей соотносились между собой так, как и в группах САС и ПСО. Соотношение объемов иммунорегуляторных субпопуляций в клинических группах ЧДБ и АФ было подобным таковому в группах САС и ПСО (рис. 1).



**Рис. 1. Относительный популяционный состав иммунокомпетентных клеток (%) периферической крови обследованных лиц.**

Примечание: здесь и далее САС – симпато-адреналовая система, ПСО – парасимпатический отдел вегетативной нервной системы, ЧДБ – часто длительно болеющие, АФ – атопический феномен.

Показатели иммунного статуса лиц с преобладанием симпатической (САС) или парасимпатической (ПСО) регуляции.

Показатели	САС (n=71)	ПСО (n=56)
Лимфоциты, %	26,18±0,47	32,30±0,62***
Лимфоциты, мкл	1578,14±27,46	1795,57±28,78***
Т-лимфоциты (CD3), %	48,63±0,79	53,80±0,76***
Т-лимфоциты (CD3), мкл	767,55±18,11	960,86±15,45***
Т-хелперы (CD4), %	30,20±0,44	34,34±0,95**
Т-супрессоры (CD8), %	32,32±0,64	29,25±0,62**
ИРИ (CD4/CD8)	0,95±0,02	1,22±0,05***
В-лимфоциты (CD19), %	12,20±0,29	12,39±0,26
В-лимфоциты (CD19), мкл	191,84±5,37	221,71±5,49***
IgA, г/л	2,88±0,09	3,06±0,08
IgM, г/л	1,39±0,05	1,30±0,06
IgG, г/л	11,91±0,22	13,66±0,25***
IgE, г/л	54,06±2,19	69,73±2,50***
ЦИК, у.е.	55,69±2,22	60,64±2,47
ХЛ, мин.	25,42±0,58	22,95±0,44***

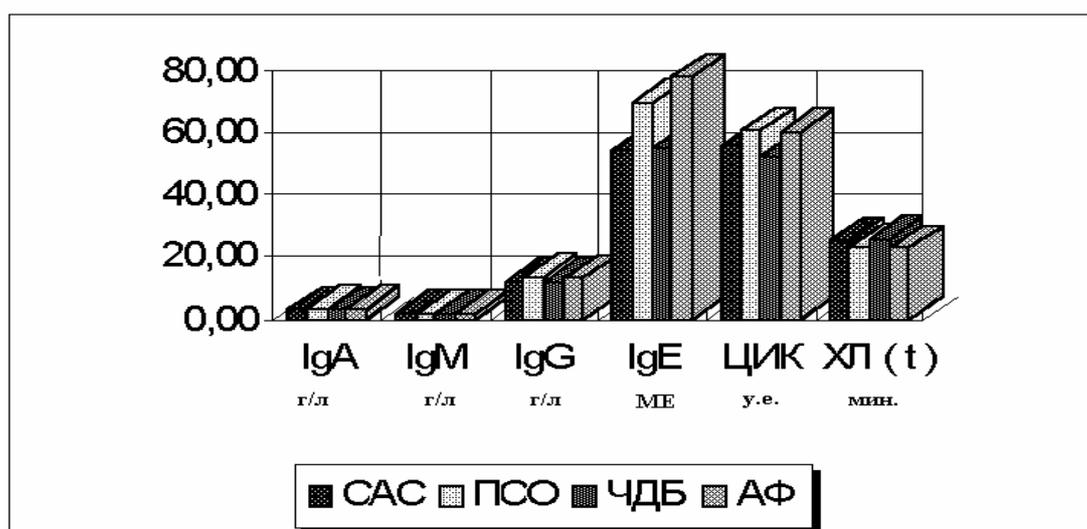


Рис. 2 Средние показатели гуморального и фагоцитарного звеньев иммунной системы обследованных лиц (M±m)

Активность гуморального звена иммунитета была выше в группе лиц с преобладанием парасимпатических влияний, что проявилось большими концентрациями IgG и IgM, ЦИК.

Лица с парасимпатикотонией характеризовались более высокой активностью фагоцитарного звена иммунитета. Об этом свидетельствует низкое время выхода на пик показателя индуцированной хемилюминесценции ( $P < 0,01$ ).

Показатели гуморального звена иммунитета пациентов с инфекционным синдромом или атопией в анамнезе отличались еще более выраженной, по сравнению с группами САС и ПСО «полярностью» распределения среднегрупповых значений (рис.2; табл.4).

Таблица 4

**Иммунограмма пациентов с наличием инфекционного синдрома (ЧДБ)  
или атопического феномена (АФ) в анамнезе.**

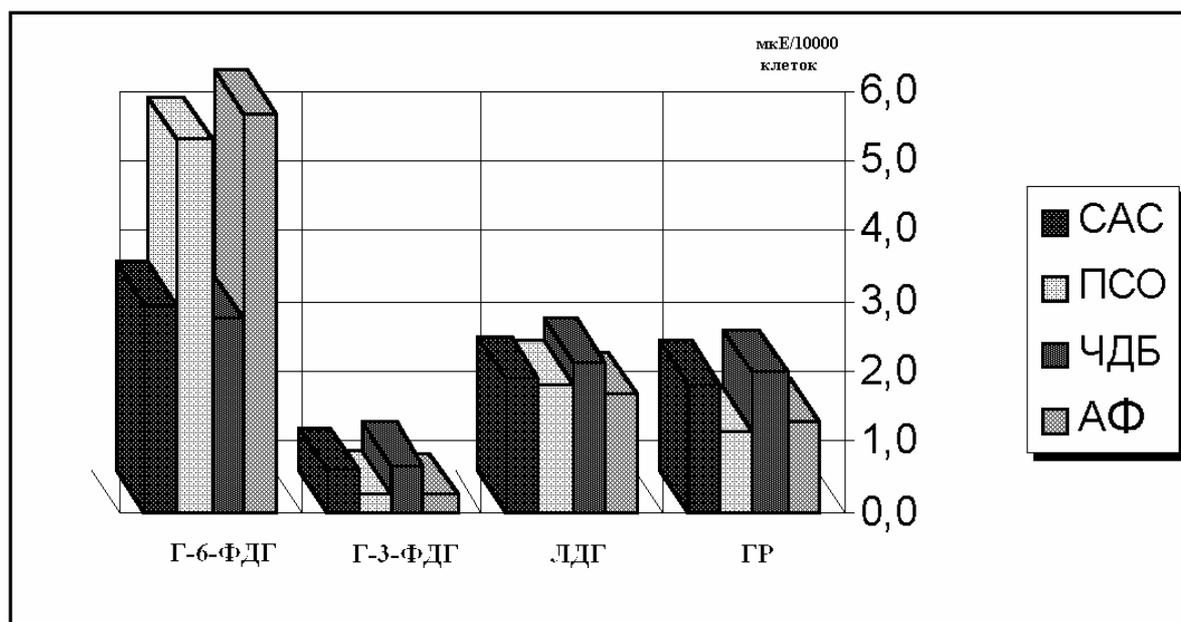
Показатели	ЧДБ (n=28)	АФ (n=27)
Лимфоциты, %	24,54± 0,69	33,56±0,64***
Лимфоциты, мкл	1494,50±35,85	1854,41±40,45***
CD3, %	46,46±1,33	53,26±0,60***
CD3, мкл	696,98±29,08	980,83±13,58***
CD4, %	30,11±0,78	34,22±0,41***
CD8, %	33,00±1,29	28,93±0,45**
CD19, %	12,21±0,44	12,19±0,23
CD19, мкл	183,38±8,92	225,56±5,72**
IgA, г/л	2,76±0,13	3,12±0,07
IgM, г/л	1,48±0,08	1,30±0,05
IgG, г/л	11,70±0,40	13,25±0,28***
IgE, МЕ	55,25±3,45	78,15±1,69***
ЦИК, у.е.	52,82±2,81	60,22±1,62*
ХЛ, мин	25,89±1,12	22,74±0,37**

Возможность полноценного участия иммунокомпетентных клеток в процессах антигенного распознавания с последующим формированием адекватного иммунного ответа на возбудитель определяется, прежде всего, их внутриклеточным обменом. Поэтому одной из наших задач было выявление структурно-метаболических особенностей лимфоцитов, обуславливающих их функциональные возможности, в зависимости от регуляторных влияний ВНС.

Анализ показателей внутриклеточного метаболизма лимфоцитов лиц в группах САС

и ПСО, подтвердил наличие в клетках разнонаправленности большинства субстратных потоков. Так, в случае доминирования симпатического отдела активность Г6ФДГ в лимфоцитах почти в 2 раза ниже соответствующих показателей в группе ПСО ( $P < 0,001$ ), где ее уровень очень высок –  $5,30 \pm 0,44$  мкЕ/ $10^4$  кл. Это предусматривает уменьшение расходования глюкозы по пентозофосфатному пути и вероятность снижения синтеза рибоз (а затем и РНК, белков-рецепторов, иммуноглобулинов, цитокинов и пр.), а также снижение выработки НАДФ в группе САС. В тоже время активность Г3ФДГ значительно выше в группе САС, что, вероятно, объясняется необходимостью дополнительного поступления субстратов с липидного обмена на гликолиз, так как высокая концентрация катехоламинов и глюкокортикостероидов, являющихся антагонистами инсулина, ограничивает поступление глюкозы в клетку. Еще одним подтверждением действия медиаторов симпатoadренальной системы, стимулирующих перекисное окисление клеточных липидов, на лимфоциты лиц этой группы является и более высокая активность ГР – основного фермента антиоксидантной системы клеток.

Таким же образом характеризовались изменения активности ферментов и в клинических группах ЧДБ и АФ: в группе лиц с инфекционным синдромом более выражено угнетение синтетических процессов (ниже активность Г6ФДГ), интенсивнее, по сравнению с группой АФ, был поток субстратов с липидного обмена на гликолиз (активнее Г3ФДГ), а также более высока активность глутатионредуктазы (рис.3; табл. 5).



**Рис.3. Средние показатели активности внутриклеточных ферментов ( мкЕ/10000 клеток) в лимфоцитах периферической крови обследованных лиц (M±m)**

Таблица 5

**Активность внутриклеточных ферментов (мкЕ/10000 клеток) в лимфоцитах лиц с преобладанием симпатической (САС) или парасимпатической (ПСО) регуляции.**

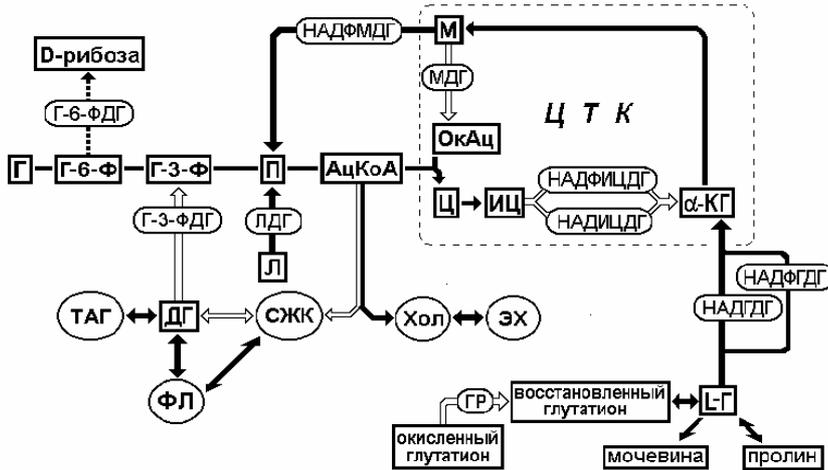
Показатели	САС (n=71)	ПСО (n=56)
Г6ФДГ	2,95±0,20	5,30±0,44***
ГЗФДГ	0,60±0,05	0,26±0,03***
ЛДГ	1,89±0,13	1,84±0,13
НАДМДГ	22,33±1,14	18,48±0,99*
НАДФМДГ	0,34±0,03	0,36±0,04
НАДФГДГ	0,34±0,03	0,40±0,04
НАДФИЦДГ	54,50±3,34	44,99±3,19*
НАДГДГ	1,65±1,14	1,46±0,17
НАДИЦДГ	2,19±0,20	1,32±0,19**
ГР	1,84±0,15	1,16±0,11**

Следует отметить, что интенсивность реакций цикла Кребса была выше в лимфоцитах лиц с преобладанием симпатического тонуса ВНС. Это подтверждается значительно большей активностью ферментов (НАДМДГ, НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ) по сравнению с группой ПСО.

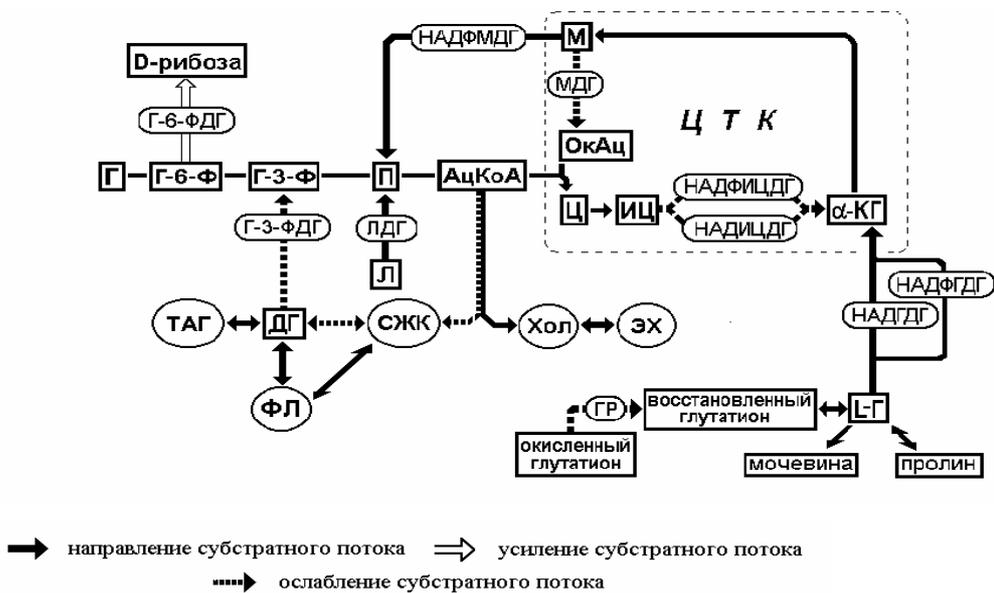
Исходя из полученных в работе данных, особенности внутриклеточного метаболизма лимфоцитов в зависимости от преобладания тонуса ВНС можно представить следующим образом (рис. 4; рис.5): у лиц из группы САС более выражена интенсивность энергетических процессов в ущерб синтетическим; это, очевидно, связано с высокой концентрацией катехоламинов. В лимфоцитах же людей с преобладанием парасимпатического тонуса (группа ПСО), напротив, отмечается большая активность синтетических процессов.

Выявленные особенности внутриклеточного метаболизма лимфоцитов пациентов с наличием в анамнезе инфекционного синдрома (ЧДБ) или атопического феномена (АФ) в целом повторяют данные, полученные в группах САС и ПСО. Однако, как и при исследовании иммунного статуса, результаты изучения структурно-метаболических параметров лимфоцитов клинических групп более ярко характеризуют разнонаправленность основных метаболических потоков в клетках. В лимфоцитах лиц группы ЧДБ (табл. 5) более выражено угнетение синтетических процессов, что

подтверждается низкой активностью Г6ФДГ ( $2,74 \pm 0,38$  мкЕ/ $10^4$  кл.) Активность же ГЗФДГ в группе ЧДБ – высока ( $0,67 \pm 0,09$  мкЕ/ $10^4$  кл.).



**Рис. 4. Внутриклеточный метаболизм лимфоцитов лиц с преобладанием симпатической регуляции (группа САС)**



**Рис. 5. Внутриклеточный метаболизм лимфоцитов лиц с преобладанием парасимпатической регуляции (группа ПСО)**

По-видимому, увеличение концентрации катехоламинов у лиц группы ЧДБ (ИК выше в 1,3 раза по сравнению с группой САС) еще больше ограничивает поступление

глюкозы в клетку, уменьшает использование ее в пентозофосфатном пути и снижает способность лимфоцитов к синтезу нуклеиновых кислот, белков, рецепторов и т.п. Вышесказанное требует обеспечения гликолиза дополнительными субстратами. В лимфоцитах же группы АФ, напротив, имеющееся явное преобладание парасимпатического тонуса ВНС (ИК в группе ПСО меньше, чем в группе АФ в 1,5 раза;  $P < 0,001$ ) способствует интенсивному поступлению в клетки глюкозы, обеспечивая, тем самым, высокую активность пластических процессов (Г6ФДГ-  $5,70 \pm 0,34$  мкЕ/ $10^4$  кл.). «Обеднения» гликолиза при этом не происходит – активность ГЗФДГ очень низка ( $0,23 \pm 0,03$  мкЕ/ $10^4$  кл.).

Для дополнительного подтверждения зависимости показателей активностивнутриклеточных ферментов лимфоцитов от характера вегетативной регуляции организма использован метод дисперсионного анализа; в качестве параметра, отражающего регуляторные влияния, учитывался вегетативный индекс Кердо.

По результатам факторного анализа установлено, что все перечисленные выше энзиматические показатели лимфоцитов, различавшиеся по своим средним значениям в группах САС и ПСО достоверно (при оценке по F-критерию Фишера) зависели от величины индекса Кердо. Кроме F-критерия использован показатель «силы влияния фактора» (по А.Н.Плохинскому, 1970). Установлено, что, в соответствии с величиной этого показателя, наиболее выражено воздействие вегетативной регуляции на активность в лимфоцитах двух ферментов – Г6ФДГ и ГЗФДГ. Эти энзиматические показатели наиболее существенно зависели от преобладания у обследованных тонуса того или иного отдела ВНС: только данным фактором (вне зависимости от других физиологических механизмов регуляции) активность ферментов Г6ФДГ и ГЗФДГ определяется на 17,4% и 16,1% соответственно (табл. 6).

Следует отметить, что интенсивность реакций цикла Кребса была выше в лимфоцитах лиц с преобладанием тонуса симпатического отдела ВНС. Это подтверждалось достоверно большей, по сравнению с группой ПСО, активностью следующих ферментов: НАДМДГ ( $P < 0,05$ ), НАДИЦДГ ( $P < 0,01$ ) и НАДФИЦДГ ( $P < 0,05$ ).

Соотношение интенсивности реакций цикла Кребса в лимфоцитах лиц с инфекционным синдромом значительно превышает таковую в группе лиц с атопией. Активность ферментов цикла трикарбоновых кислот в группе ЧДБ достоверно более высока (рис.6).

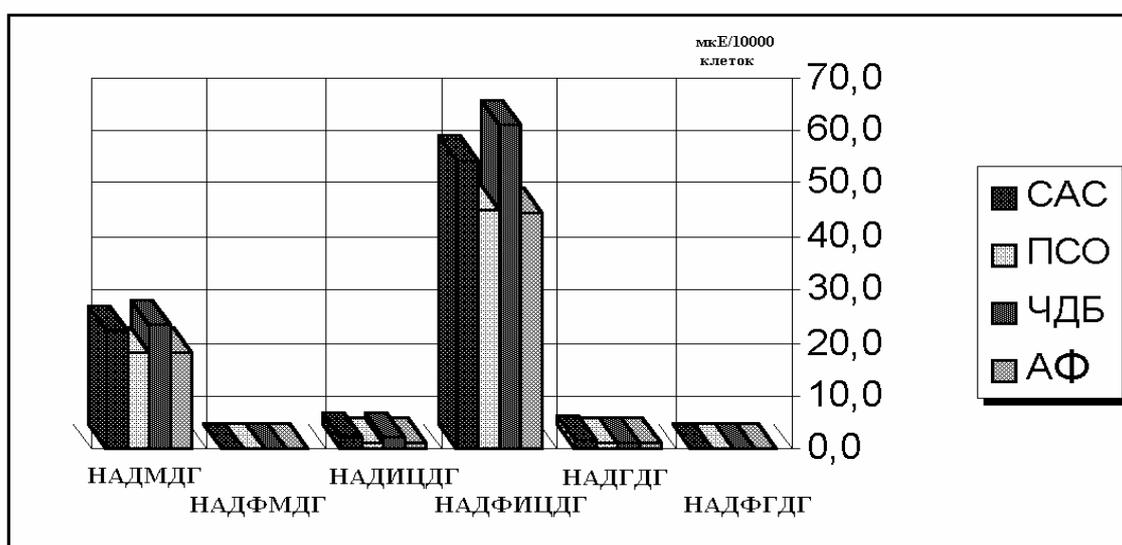
Изменение физико-химических свойств и компонентного состава цитоплазматических мембран клеток, оказывают значительное влияние на их функциональные свойства и являются одним из механизмов, приводящих к

нарушению жизнедеятельности клетки и развитию патологических процессов. Известна зависимость реакций лимфоцита на внешний сигнал от липидного состава мембран. Кроме того, липиды определяют пластичность мембраны, которая зависит, в частности, от соотношения холестерина/фосфолипиды.

Таблица 6

**Зависимость показателей активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов от преобладания тонуса симпатического или парасимпатического отдела ВНС (сравнение групп САС и ПСО)**

Показатели	Критерий Фишера		Достоверность различий	Сила влияния фактора
	F критический	F вычисленный		
Г6ФДГ	3,917	26,348	<0,001	0,174
ГЗФДГ		24,053	<0,001	0,161
ЛДГ		0,075		0,001
НАДМДГ		5,998	<0,02	0,046
НАДФМДГ		0,052		0,000
НАДФГДГ		1,347		0,011
НАДФИЦДГ		4,484	<0,05	0,030
НАДГДГ		1,706		0,012
НАДИЦДГ		9,519	<0,01	0,078
ГР		11,784	<0,001	0,086



**Рис. 6. Средние показатели активности внутриклеточных ферментов (мкЕ/10<sup>4</sup> клеток) цикла Кребса и сопряженных с ним метаболических путей в лимфоцитах периферической крови обследованных лиц (M±m)**

Нами установлено, что соотношение холестерина/фосфолипиды в мембранах лимфоцитов лиц с преобладанием симпатического тонуса ВНС достоверно выше, чем в группе с повышенным парасимпатическим тонусом ( $0,67 \pm 0,02$  и  $0,60 \pm 0,02$ ;

соответственно;  $P < 0.05$ ). Это предполагает формирование большей микровязкости, но меньшей текучести и проницаемости мембран клеток при доминировании в организме симпатических влияний. Сниженное количество свободных жирных кислот ( $P < 0,05$ ) и низкое соотношение СЖК/ТАГ ( $P < 0,05$ ) в клетках обследованных лиц группы ПСО свидетельствовало о более высокой у них активности процессов липогенеза. В лимфоцитах же лиц с доминированием симпатoadренальной системы уровень показателя СЖК/ТАГ подтверждал наличие сдвига липидного обмена в сторону липолиза.

Таблица 7

**Показатели липидного спектра лимфоцитов (%) обследованных пациентов с наличием инфекционного синдрома (ЧДБ) или феномена атопии (АФ) в анамнезе**

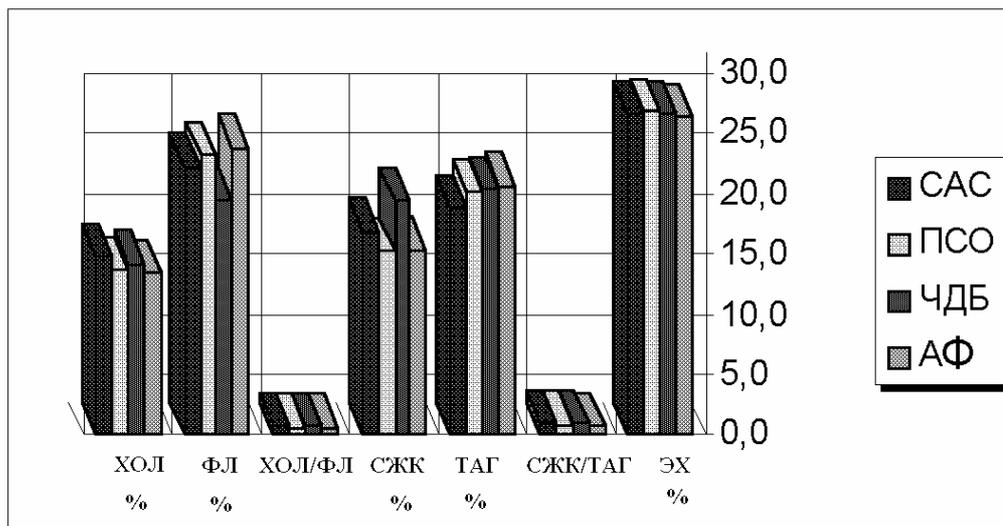
Показатели	ЧДБ ( n=28)	АФ (n=27)
ХОЛ	14,21±0,66	13,49±0,24
ФЛ	19,43±0,41	23,80±0,92
ХОЛ/ФЛ	0,74±0,03	0,58±0,01*
СЖК	19,43±0,33	15,39±0,55*
ТАГ	20,34±0,41	20,71±0,63
СЖК/ТАГ	0,97±0,02	0,75±0,02*
ЭХ	26,58±0,63	26,42±1,08

Дисперсионным анализом установлено, что показатели липидного спектра лимфоцитов, различавшиеся в исследуемых группах по своим средним значениям – СЖК, ХОЛ/ФЛ, СЖК/ТАГ – достоверно зависят от величины индекса Кердо. В соответствии же с «силой влияния фактора», наиболее выражено воздействие вегетативной регуляции на показатель ХОЛ/ФЛ, величина которого (вне зависимости от других физиологических механизмов регуляции) на 10,8% определяется только преобладанием у лиц тонуса того или иного из отделов ВНС.

При изучении структурных параметров мембран лимфоцитов обследованных нами двух клинических групп установлено, что величина соотношения ХОЛ/ФЛ определялась достоверно выше при преобладании инфекционного синдрома ( $P < 0,05$ ) (табл.7).

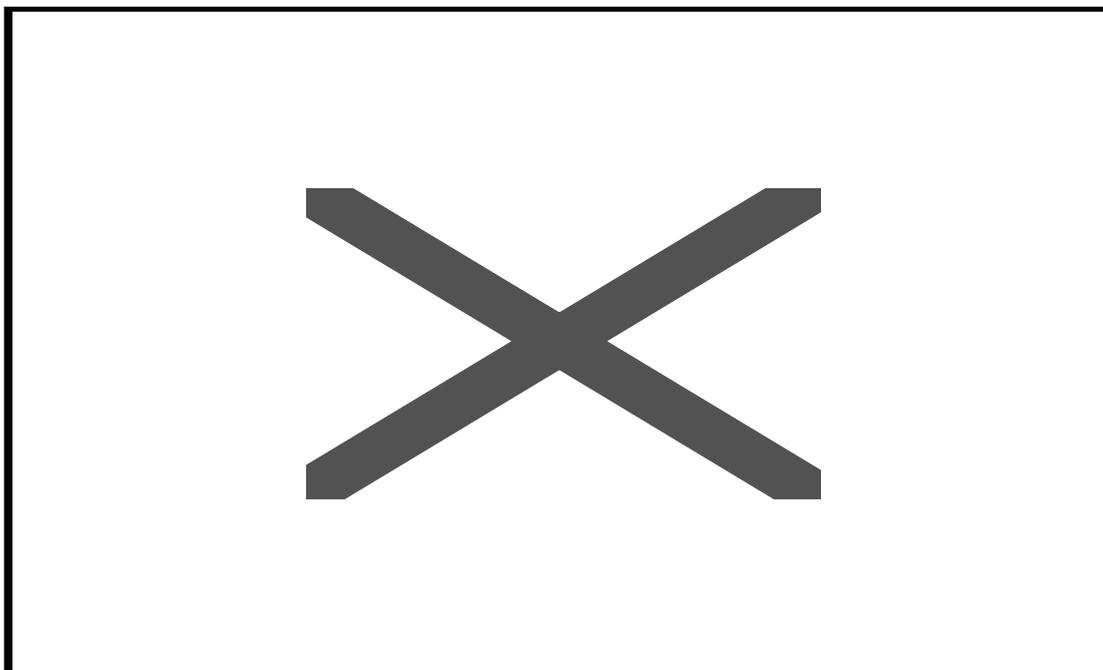
Показатели же СЖК и СЖК/ТАГ в группе лиц с преобладанием атопических реакций, были достоверно ниже, что указывает на меньшую выраженность процессов липолиза. Это, видимо, объяснимо следствием меньшего у них катехоламинового воздействия на лимфоциты при повышении тонуса парасимпатического отдела ВНС

(рис.7).



**Рис. 7. Средние показатели липидного спектра (%) лимфоцитов периферической крови в группах обследованных лиц ( $M \pm m$ )**

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что регуляция вегетативной нервной системой особенностей иммунореактивности человека, имеющей соответствующие клинические проявления, осуществляется определенными механизмами, которые схематично представлены на рисунке 8.



**Рис.8. Особенности иммунореактивности организма в зависимости от вегетативной регуляции**

## **ВЫВОДЫ:**

1. Показатели иммунного статуса лиц при доминировании парасимпатического отдела вегетативной нервной системы в сравнении их с аналогичными показателями лиц с симпатикотонией достоверно отличаются более высоким количеством лимфоцитов в периферической крови и большей долей среди них CD3 и CD19-клеток, более высоким соотношением CD4/CD8 лимфоцитов, повышенной концентрацией IgG и IgE, высокой функциональной активностью фагоцитов.

2. При доминировании тонуса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы внутриклеточный метаболизм лимфоцитов характеризуется активацией пластических процессов на фоне депрессии энергопродуцирующих реакций.

3. Липидный спектр лимфоцитов лиц с преобладающим влиянием парасимпатического отдела ВНС характеризуется менее высокими соотношениями «холестерин/фосфолипиды» и «свободные жирные кислоты/триацилглицериды», что отражает высокие функциональные возможности клеточных мембран и преобладание в лимфоцитах процессов липогенеза. При симпатикотонии, наоборот, в лимфоцитах имеет место активация энергетических процессов в ущерб пластическим и преобладание в клетках процессов липолиза.

4. Преобладание парасимпатических влияний вегетативной нервной системы играет роль в предрасположенности человека к развитию atopического синдрома. Развитие инфекционного синдрома ассоциировано с более высоким тонусом симпатического отдела вегетативной нервной системы и сопровождается характерными изменениями иммунитета.

5. Предрасположенность к развитию инфекционного синдрома обусловлена повышенным содержанием в лимфоцитах холестерина и в связи с этим – плотными низкопроницаемыми мембранами, ограничивающими возможности рецепторного аппарата клеток и поступление в них субстратов. Эти структурно-функциональные особенности мембран ассоциированы с низкой интенсивностью пластических процессов, обеспечивающихся пентозофосфатным путем метаболизма.

6. Развитие atopического синдрома определяют следующие структурно-метаболические особенности лимфоцитов: менее вязкие, легкопроницаемые мембраны, способствующие повышенной экспрессии рецепторов, что сочетается с высокой активностью пластических процессов, создающих условия для пролиферации и синтеза иммуноглобулинов.

7. Состояние внутриклеточного обмена лимфоцитов у пациентов с клиническими проявлениями в виде инфекционного синдрома или аллергических реакций в анамнезе

являются теоретическим обоснованием необходимости использования метаболических иммунокорректоров для донозологической профилактики указанных состояний.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:**

1. Лицам с частыми заболеваниями инфекционной этиологии или аллергическими проявлениями в анамнезе рекомендуется проводить оценку вегетативной регуляции.
2. При преобладании тонуса симпатического отдела ВНС с целью уменьшения частоты инфекционных заболеваний рекомендовать применение метаболических корректоров, стимулирующих внутриклеточные синтетические процессы. Повышение тонуса парасимпатического отдела ВНС и проявления атопии требуют применения корректирующих препаратов, действие которых направлено на стимуляцию энергопродуцирующих реакций в лимфоцитах.
3. В качестве метода, позволяющего прогнозировать развитие атопического синдрома, целесообразно использовать определение показателя активности в лимфоцитах глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и величины индекса Кердо. Значение показателя Г6ФДГ, превышающее величину 4,42 мкЕ/10000 клеток, является «критическим», при котором достоверность риска развития атопического синдрома в ближайшие 3 года составляет 87,50%. При величине индекса Кердо меньше, чем «-5,09%» вероятность его возникновения равна 93,75%. При определении двух указанных показателей достоверность прогноза развития атопического синдрома возрастает до 100%.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Рагинене И.Г., Камзалакова Н.И., Булыгин Г.В. Особенности вегетативной регуляции организма и липидного спектра лимфоцитов человека // Краевая научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов: Тез. докл. – Красноярск, 2002. – С.167-168.
2. Рагинене И.Г., Камзалакова Н.И., Булыгин Г.В., Мельникова Е.М. Вегетативная регуляция и клинические проявления особенностей иммунореактивности здорового человека // Краевая научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов: Тез. докл. – Красноярск, 2002. – С.168-170.
3. Рагинене И.Г., Камзалакова Н.И., Булыгин Г.В. Влияние вегетативной нервной системы на показатели иммунитета и особенности иммунореактивности человека. // Медицинская иммунология. – 2002. – Т.4, №2. – С.131-132.
4. Регуляция вегетативной нервной системой индивидуальных проявлений иммунореактивности организма / И.Г.Рагинене, Н.И.Камзалакова, С.Н.Шилов и др. //

Сибирский медицинский журнал. – 2003. – №1.

5. Зависимость иммунореактивности здорового человека от вегетативной регуляции организма / И.Г.Рагинене, Н.И.Камзалакова, Г.В.Булыгин и др. // Материалы научно-практической конференции, посвященной 60-летию ККБ. – Красноярск, 2002. – С.276-277.

### Изобретения:

Рагинене И.Г., Шилов С.Н., Камзалакова Н.И. Заявка № 2002120759/14 на изобретение «Способ прогноза развития атопического синдрома».

Приоритет от 29.07.2002 г.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

<b>АФ</b>	- атопический феномен
<b>ВНС</b>	- вегетативная нервная система
<b>ГР</b>	- глутатионредуктаза
<b>ГЗФДГ</b>	- глицерол-3-фосфатдегидрогеназа
<b>Г6ФДГ</b>	- глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
<b>ИДС</b>	- иммунодефицитное состояние
<b>ИК</b>	- индекс Кердо
<b>ИКК</b>	- иммунокомпетентные клетки
<b>Ig A, M, G, E</b>	- иммуноглобулины А, М, G, E
<b>ИРИ</b>	- иммунорегуляторный индекс (CD <sub>4</sub> /CD <sub>8</sub> )
<b>ИС</b>	- иммунная система
<b>ИСтр</b>	- индекс стресса
<b>ЛИИ</b>	- лейкоцитарный индекс интоксикации
<b>ЛДГ</b>	- лактатдегидрогеназа
<b>лф.</b>	- лимфоциты
<b>МО</b>	- минутный объем крови
<b>НАД</b>	- никотинамидадениндинуклеотид
<b>НАДН</b>	- никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
<b>НАДГДГ</b>	- НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа
<b>НАДИЦДГ</b>	- НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа
<b>НАДМДГ</b>	- НАД-зависимая малатдегидрогеназа
<b>НАДФ</b>	- никотинамидадениндинуклеотид фосфат
<b>НАДФН</b>	- никотинамидадениндинуклеотид фосфат восстановленный
<b>НАДФГДГ</b>	- НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа
<b>НАДФИЦДГ</b>	- НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа
<b>НАДФМДГ</b>	- НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа
<b>ПОЛ</b>	- перекисное окисление липидов
<b>ПСО</b>	- парасимпатический отдел ВНС
<b>ПФП</b>	- пентозофосфатный путь
<b>САС</b>	- симпато-адреналовая система
<b>СЖК</b>	- свободные жирные кислоты
<b>ТАГ</b>	- триацилглицериды
<b>ФЛ</b>	- фосфолипиды
<b>ХЛ</b>	- индуцированная хемилюминесценция (время выхода на пик)
<b>ХОЛ</b>	- холестерин
<b>ЦИК</b>	- циркулирующие иммунные комплексы
<b>ЦТК</b>	- цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса)
<b>ЧДБ</b>	- инфекционный синдром (часто длительно болеющие)
<b>ЭХ</b>	- эфиры холестерина

