На правах рукописи

Калинина Юлия Сергеевна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ У ВЗРОСЛЫХ

14.01.09 – инфекционные болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерациии и федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент **Куимова Ирина Валентиновна**

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук, профессор **Исаков Валерий Александрович**
(Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, профессор)

доктор медицинских наук, доцент **Кокорева Светлана Петровна**
(Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, кафедра детских инфекционных болезней, заведующий)

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Москва)

Защита диссертации состоится «_____» декабря 2019 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.01 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. 8 (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. 8 (383) 229-10-83); http://ngmu.ru/dissertation/473)

Автореферат разослан «_____»_____2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета И. В. Куимова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Ветряная оспа (ВО) является одним из наиболее часто встречающихся инфекционных заболеваний и представляет собой трудную и пока далекую от своего решения проблему медицинской науки и практического здравоохранения. В Российской Федерации (РФ) регистрируется до 800 тыс. случаев ежегодно, при этом в 55 субъектах из 95 показатели заболеваемости превышают среднероссийские в 2 и более раза. Наиболее поражаемой группой населения являются дети в возрасте до 14 лет, взрослый контингент среди всех заболевших ветряной оспой составляет около 10,0 % [Воронин Е. М. с соавт., 2010; Галицкая М. Г., 2010; Кокорева, С. П. с соавт., 2016; Габбасова Н. В. с соавт., 2017; Ситник Т. Н. с соавт., 2018]. Однако, несмотря на низкий уровень заболеваемости ветряной оспой взрослых, риск развития осложнений у взрослых в 1,9 раза выше, а госпитализации в 6,2 раза чаще, чем у детей [Воронин Е. М. 2012; Головко М. Г. с совт., 2015; Зрячкин Н. И. с соавт., 2017; Утенкова Е. О. с соавт., 2017; Gowin, E. et al., 2013; Bozzola E. et al., 2016], а риск смерти при заболевании ветряной оспой у взрослых в 25–175 раз выше по сравнению с детьми [Деконенко Е. П., Шишкина А. В., 2008; Лобзин Ю. В., 2012; Якубенко А. Л., Глущенко А. А., 2013; Marin M. et al., 2011].

Общий ущерб от ветряной оспы и ее осложнений в РФ, отражающий ежегодные существенные экономические потери, обусловленные данным заболеванием, по экспертным оценкам, только за 2018 год составил 28 742 653,6 тыс. рублей [Государственный доклад. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019].

Ветряная оспа является относительно доброкачественным заболеванием, известно, что даже у исходно здоровых лиц возможно развитие тяжелых и осложненных форм болезни [Краснова Е. И. с соавт., 2012; Якубович О. А., Ванюшкина А. П., 2014; Скрипченко Н. В., 2016; Галкина Л. А., Целипанова Е. Е., 2017].

Наибольший риск неблагоприятного течения с возможным летальным исходом имеют иммунокомпрометированные пациенты: больные с онкогематологическими, аутоиммунными и системными заболеваниями, получающие цитостатическую, глюкокортикоидную и лучевую терапию [Деконенко Е. П., Шишкина А. В., 2008; Шахгильдян В. И., 2013]. Наиболее важными факторами риска, ассоциированными со степенью тяжести ветряной оспы, генерализацией процесса и смертельным исходом у взрослых являются возраст пациентов и нарушение функций иммунной системы [Ратникова Л. И., Миронов И. Л., 2001; Свистунов В. В. с соавт., 2001]. Роль иммунной системы в патогенезе ветряной оспы очевидна, так как именно она, взаимодействуя с вирусом и формируя противовирусный ответ, предопределяет течение болезни [Гайнанова Е. Г., Скороходкина О. В.,

2011; Исаков В. А. с соавт., 2013; Сабитов А. У. с соавт., 2013; Сайбель А. В., 2013; Любошенко Т. М., Долгих Т. И. 2014; Vandervenne P. et al., 2010].

Степень разработанности темы диссертации. Многие аспекты иммунопатогенеза ветряной оспы к настоящему времени освещены довольно подробно в отечественной и зарубежной литературе, хотя остается и достаточное количество спорных моментов. Проведенные исследования указывали на ведущую роль специфического Т-клеточного иммунного ответа в ограничении репликации вируса, предотвращении генерализованных форм болезни, выздоровлении от острой инфекции [Сабитов А. У. с соавт., 2013; Железникова Г. Ф. с соавт., 2015; Milikan J. et al., 2009; Arvin A. M. et al., 2010; Wang T. et al., 2010].

Имеются сообщения о том, что первичный иммунный клеточный ответ при ветряной оспе реализуется системой врожденного иммунитета путем активации натуральных киллеров и выработки противовирусных цитокинов [Weinberg A., Levin M., 2010; Cunha B. A. et al., 2011; Ransohoff R. M., Brown M. A. 2012]. При ветряной оспе первичный Т-клеточный ответ характеризуется преимущественной продукцией цитокинов Th1-типа при снижении или отсутствии выработки Th-2 типа цитокинов, таких как IL-4 или IL-10, IL-12 **[**Шарова А. А., Сабитов А. У., 2011; Железникова Г. Ф. с соавт., 2015; Jenkins D. et al., 1998; Wang J. et al., 2005; Lee S. H. et al., 2009**],** что определяет смещение баланса двух форм иммунного ответа (клеточного и гуморального) в пользу клеточного звена [Сабитов А. У. с соавт., 2013; Arvin A. et al. 1986]. Механизмы иммунодепрессивного действия обусловлены подавлением хемотаксиса и снижением активности процесса фагоцитоза, угнетением функции Т-киллеров, естественных киллеров (NK), реакции бласт-трансформации лимфоцитов, возможной прямой стимуляции CD4+-, CD8+- лимфоцитов. Существенную роль в патогенезе ветряной оспы играет и интерферонодефицит, который проявляется в подавлении интерфероновой реакции лейкоцитов, снижении способности лимфоцитов синтезировать гамма-интерферон, фибробластов – бета-интерферон [Гайнанова Е. Г., Скороходкина О. В., 2011; Asanuma H., 2000; Banovic T. et al., 2011].

Отдельного внимания заслуживают наблюдения, свидетельствующие о способности вируса варицелла-зостер избегать иммунологического надзора за счет нарушения процессов презентации вирусных антигенов, как это было впервые показано на примере экспрессии молекул MHC II фибробластами человека [Abendroth A., Arvin A., 2000, 2001; Nikkels A. et al., 2004; Schonrich G., Raftery M. J., 2015].

Представляется перспективным проведение целенаправленных комплексных исследований по выяснению роли иммунной системы, в частности, иммуно-компетентных клеток (ИКК) в развитии ветряной оспы.

Известно, что проявление в полном объеме функциональных возможностей ИКК в процессе распознавания антигена и формирования иммунного ответа происходит лишь при соответствующем состоянии их внутриклеточного метаболизма [Булыгин Г. В. с соавт., 1999, 2010; Савченко А. А. с соавт., 2010; Борисов А. Г. с соавт, 2015]. Последний же обеспечивается определенным уровнем активности их внутриклеточных ферментов. До настоящего времени активность ферментов в ИКК при ветряной оспе целенаправленно не изучалось.

Таким образом, перспектива решения медицинских задач, связанных с проблемой ветряной оспы, заключается не только в совершенствовании клинической диагностики, а также изучении метаболических параметров лимфоцитов, позволяющих охарактеризовать внутриклеточные механизмы формирования иммунореактивности, но и в предложении качественно нового направления комплексной патогенетической терапии больных ветряной оспой, предусматривающей применение метаболических корректоров.

Все вышеизложенное определило необходимость настоящего исследования, позволило сформулировать его цель и задачи.

Цель исследования. Изучить характер изменений иммунологических процессов и состояние внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при различных сроках и степени тяжести ветряной оспы у взрослых.

Задачи исследования

1. Изучить клинически-эпидемиологические особенности течения ветряной оспы у взрослых в Красноярском крае.

2. Исследовать основные показатели иммунного статуса больных ветряной оспой при разгаре болезни и в периоде реконвалесценции.

3. Сравнить активность метаболических реакций в лимфоцитах в зависимости от степени тяжести ветряной оспы у взрослых.

4. Оценить динамику активности ведущих ферментативных систем лимфоцитов у больных ветряной оспой на фоне базисной терапии и при использовании метаболической коррекции.

5. Изучить влияние противовирусной терапии и метаболической коррекции на функциональное состояние иммунной системы у больных ветряной оспой.

Научная новизна. Впервые проведено многоаспектное исследование, включающее в себя изучение общеклинических, иммунологических и метаболических параметров лимфоцитов взрослых больных ветряной оспой.

Впервые по результатам изучения показателей иммунного статуса больных ветряной оспой и активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов предложена концептуальная

схема механизмов метаболического реагирования лимфоцитов на вирус ветряной оспы в разные периоды заболевания.

Получены новые данные, свидетельствующие о имеющейся корреляционной взаимообусловленной линейной зависимости между метаболическими параметрами лимфоцитов больных в острый период заболевания: угнетение реакций пентозофосфатного пути, начальных этапов цикла Кребса понижает способность иммунокомпетентных клеток к процессам макромолекулярного синтеза и ограничивает их функциональные возможности.

Установлено, что использование в комплексе с противовирусной терапией препарата на основе янтарной кислоты усиливает процессы энергообразования в клетках, активирует ряд ферментов цикла Кребса и повышает возможности иммунокомпетентных клеток в формировании ответа на инфекционный (вирусный) агент.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость выполненного исследования заключается в том, что установлены новые механизмы участия иммунной системы в инфекционном процессе, обусловленные функциональными возможностями лимфоцитов, что расширяет и углубляет фундаментальные представления о патогенезе ветряной оспы, особенностях течения заболевания, исходе и способствует совершенствованию патогенетической терапии.

По совокупности метаболических процессов, происходящих в лимфоцитах больных ветряной оспой в разгар заболевания, показано: ограничение способности к пролиферации и других функциональных возможностей лимфоцитов, обусловленных уменьшением количества восстановленного НАДФ, используемого для синтетических реакций, значительное снижение интенсивности реакций начального этапа цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), что уменьшает энергетическую эффективность цикла в ИКК.

Продемонстрирована потенциальная эффективность включения в комплексное лечение больных ветряной оспой препаратов для метаболической иммунокоррекции с целью создания оптимальных условий функционирования лимфоцитов и обеспечения полноценного иммунного ответа.

Методология и методы диссертационного исследования. Для достижения цели и реализации поставленных задач проведено ретроспективное аналитическое исследование, которое включало изучение данных о впервые выявленных в период 2012–2017 гг. больных ветряной оспой. Изучены данные опроса пациентов, результаты физикального обследования, лабораторных методов исследования (общего анализа крови, биохимического анализа крови, иммунного статуса, ИФА на антитела Ig M к антигенам вируса Varicella zoster), а также биолюминесцентным методом определялась активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ.

Положения, выносимые на защиту

1. Основными клиническими особенностями ветряной оспы у взрослых являются: наличие клинически выраженного продромального периода, экзантемы и интоксикационного синдрома.

2. Острый период ветряной оспы у взрослых больных характеризуется развитием лимфопении с нарушением дифференцировки субпопуляций Т-лимфоцитов и снижением их пролиферации, уменьшением функциональной активности Т и В клеток.

3. При ветряной оспе тяжелой степени тяжести у взрослых имеет место ферментопатия по Г6ФДГ и уменьшение энергопродукции за счет начальных этапов цикла Кребса, что отрицательно сказывается на процессах синтеза и пролиферации клеток при формировании противовирусного ответа.

4. Период реконвалесценции не сопровождается полноценным восстановлением метаболических параметров лимфоцитов, что ограничивает формирование адекватного противовирусного ответа. Использование метаболической коррекции приводит к повышению энергообеспечения лимфоцитов, а также реализации их синтетической и пролиферативной функции.

Степень достоверности результатов. Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется достаточным числом наблюдений с применением комплекса методов исследования и использованием общепринятых статистических методов обработки и анализа полученных данных.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации и полученные результаты представлены и обсуждены на межрегиональных научно-практических конференциях, в том числе с Международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Красноярск, 2012, 2013), на 14-м Международном Славяно-Балтийском научном форуме (Санкт Петербург, 2012), на 3-м, 4-м, 6-м Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2011, 2012, 2014), на 8-й Всероссийской научно-практической конференции с Международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2014), на межрегиональной научно-практической конференции (Краснодар, 2017).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Инфекционные болезни, фтизиатрия и дерматовенерология» ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (Красноярск, 2018) и на заседании проблемной комиссии«Актуальные проблемы диагностики и терапии инфекционных заболеваний» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2019).

Диссертация выполнена в соответствии с комплексной темой научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, номер государственной регистрации 01201250561 и в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Клинико-морфологические и молекулярно-биологические основы диагностики и лечения заболеваний внутренних органов и коморбидных состояний у детей и взрослых», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910171-1.

Внедрение результатов работы. Результаты исследования внедрены в практическую работу врачей инфекционного отделения КГБУЗ «КМК БСМП имени Н. С. Карповича», инфекционной больницы города Кызыла республики Тыва, а также используются в учебном процессе на кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России и на кафедре инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Отдельные фрагменты исследования легли в основу учебных пособий:

1. Ранняя диагностика и лечение «детских» инфекций у взрослых на догоспитальном этапе и в условиях стационара : учеб. пособие / Е. П. Тихонова, Т. Ю. Кузьмина, Ю. С. Тихонова (Калинина); Красноярский медицинский университет. – Красноярск : КрасГМУ, 2014. – 120 с. Утверждено УМО (протокол № 390/05.05-20 от 23.10.2013)
2. Экзантемы при инфекционных заболеваниях: учеб. пособие/ Е. П. Тихонова, Т. Ю. Кузьмина, Н. В. Андронова, Ю. С. Калинина. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2016. – 138 с. Утверждено УМО (протокол №60\05.05-19 от 18.07.2016).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 8 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 4 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка

иллюстративного материала. Список литературы представлен 279 источниками, из которых 148 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 10 таблиц и 24 рисунков.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в планировании исследования, в формировании групп пациентов, включенных в исследование, в сборе материала, комплексном клинико-лабораторном обследовании и исследовании активности внутриклеточных ферментов пациентов с ветряной оспой (70 %). Анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, статистическая обработка полученных результатов, их анализ и написание диссертации выполнены лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор клинического материала проводился с 2012 по 2017 годы на клинической базе Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого – инфекционное отделение МБУЗ БСМП имени Н. С. Карповича г. Красноярска. Объектом исследования в данной работе были 118 пациентов обоего пола в возрасте от 18 до 40 лет, больных ветряной оспой, находившихся на динамическом наблюдении. Отбор больных в группы осуществлялся методом сплошного наблюдения по мере поступления в стационар с исключением вторичного инфицирования другим вирусом или реактивации ВПГ-1 (проводилось исследование методом ИФА с определением IgM, IgG к герпесу 1 типа). Верификация диагноза проводилась на основании наличия ведущих клинических синдромов заболевания: интоксикационного и распространенного поражения кожи и слизистых, а также результатов эпидемиологического анамнеза: контакт с больным ветряной оспой. При затруднении установления диагноза, а именно при отсутствии данных о контакте с больным ветряной оспой или при не типичной клинической картине болезни, определяли методом ИФА наличие Ig M к VZV у 43 (36,4 %) больных. Обследование проводилось в соответствии с юридическими и этиескими принципами медико-биологических исследований у человека (заключение локального этического комитета ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ; протокол № 35/2011 от 31.10.2011 года), от всех обследованных лиц было получено информированное согласие.

Иммунологические методы исследования осуществлялись в лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера» г. Красноярска (директор д. м. н., профессор Э. В. Каспаров) и включали в себя определение в крови методом проточной цитофлуориметрии: Т-лимфоцитов, несущих $CD3^+$, и регуляторных субпопуляций лимфоцитов $CD4^+$ и $CD8^+$ (с подсчетом соотношения CD4/CD8), а также $CD19^-CD16/56^-CD45^+$, В-лимфоциты ($CD3^-CD19^+CD16/56^+CD45^+$).

Исследование показателей внутриклеточного метаболизма лимфоцитов проводили по методике А. А. Савченко и Л. Н. Сунцовой (1989) на биолюминометре «БЛМ-8801», сконструированного в СКТБ «Наука» (г. Красноярск). В лимфоцитах, выделенных из периферической крови на градиенте плотности фиколл-верографина, биолюминесцентным методом определялась активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (Г6ФДГ, Г3ФДГ, ЛДГ, НАДМДГ, НАДФМДГ, НАДГДГ, НАДФГДГ, НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ) и глутатионредуктазы.

Иммунологические исследования и оценка показателей внутриклеточного метаболизма лимфоцитов были проведены у 61 пациента. Эти пациенты были разделены на следующие группы: 1 группа (n = 29) – больные с диагнозом «ветряная оспа средней степени тяжести» (получали этиотропную терапию – ацикловир); 2 группа (n = 27) – больные из первой группы, обследованные в динамике после противовирусной терапии ацикловиром, и 3 группа (n = 24) – больные с диагнозом «ветряная оспа средней степени тяжести» (получали этиотропную терапию – ацикловир и метаболический корректор – цитофлавин); 4 группа (n = 8) – больные с диагнозом «ветряная оспа тяжелая степень тяжести»; 5 группа (n =36) – относительно здоровые лица обоего пола от 18 до 40 лет.

Подробный дизайн исследования представлен в рисунке 1.

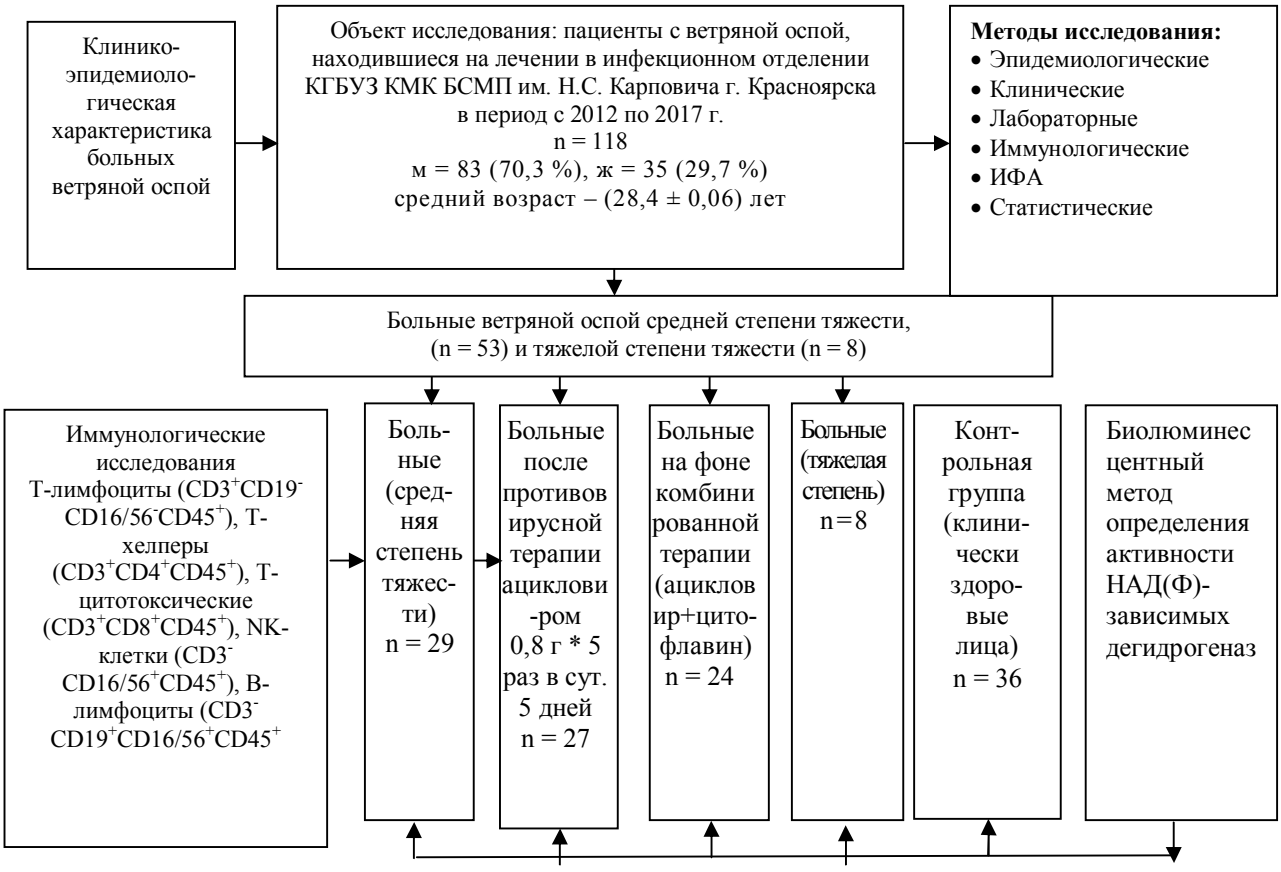

Рисунок 1 – Дизайн исследования

Статическая обработка материалов проводилась на ПК Pentium-MMX в среде WINDOWS XL с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office 2010 (MS Excel) и программы STATISTICA 8.0 (StatSoftInc, США). Применялись методы вариационной статистики с вычислением средней арифметической (M) и ее ошибки (m), процентного содержания ряда исследуемых показателей (%) [Гланц С., 1998]. Математическую обработку цитофлуориметрических данных проводили с помощью программ CytExpert software v.1.1 и Kaluza™ v.1.5a (Beckman Coulter, США). Сравнение достоверности отличий в независимых группах проведено с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни и Крускала – Уоллиса, при повторных наблюдениях в группе (до - после) – с помощью критерия Вилкоксона. Количественные переменные представлены в виде медианы и процентилей [25; 75], их сравнение в независимых группах выполнено с помощью критерия Вилкоксона для расчета коэффициентов достоверности различий между группами. Сравнение абсолютных и относительных частот бинарных признаков проводилось с помощью критерия $\chi 2$ – Пирсона с поправки по Йейтсу. Критический уровень значимости, при проверке статистических гипотез о существовании различий показателей между группами, (p) принимался равным 0,05 и менее. При оценке результатов исследований использован метод корреляционного анализа, с расчетом коэффициента парной корреляции по Спирмену. Трактовка корреляционных взаимосвязей следующая: при значениях $r > 0,95$ – параметры связаны между собой функциональной связью, при $r = 0,95\text{-}0,8$ – связи высокой тесноты, при $r = 0,8\text{-}0,6$ – связи средней тесноты. В работе обсуждались только значимые ($p < 0,05$) корреляционные связи. Рассчитывалась матрица факторных нагрузок после вращения методом *VARIMAX* (максимизации «дисперсии» квадратов факторных нагрузок для переменных*)*. При $ri > 0,95$ предложенная модель хорошо описывает процесс и свидетельствует о наличии функциональной связи между анализируемыми показателями, при $0,7 < ri < 0,95$ модель удовлетворительно описывает процесс.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Средний многолетний уровень показателя заболеваемости в Красноярском крае за последние нескольких лет составлял 22 024 на 100 тыс. населения. В эпидемический процесс ветряной оспы преимущественно вовлекалось детское население, доля которого в общей заболеваемости составляла более 93 %, но отмечался рост заражения взрослых. При анализе заболеваемости ветряной оспой среди наблюдаемых нами пациентов установлено, что причиной возникновения заболевания в 76,3 % случаев был контакт с больными ветряной оспой, в частности, контакт с заболевшими детьми (23,7 %). Госпитализация взрослых проводилась не только по клиническим, но и эпидемиологическим показаниям, а именно 41,5 % госпитализированных были лица юношеского возраста – это студенты, проживающие

в общежитиях, и солдаты срочной службы, госпитализированные из казармы, где в 2013 г. во время вспышки в воинской части регистрировались случаи ветряной оспы.

Результаты комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов с ветряной оспой показали, что продромальный период у наблюдаемых больных продолжался (2,5 ± 1,5) дней и характеризовался повышением температуры до (38,7 ± 1,3)ºС. При этом уже с первых дней заболевания у большинства пациентов (61,9 %) отмечался астено-вегетативный синдром, а у каждого четвертого больного сопровождался катаральным синдромом, проявляющемся в виде жалоб на першение и боль в горле, кашель, слезотечение. Клинические проявления продромального периода представлены на рисунке 2.

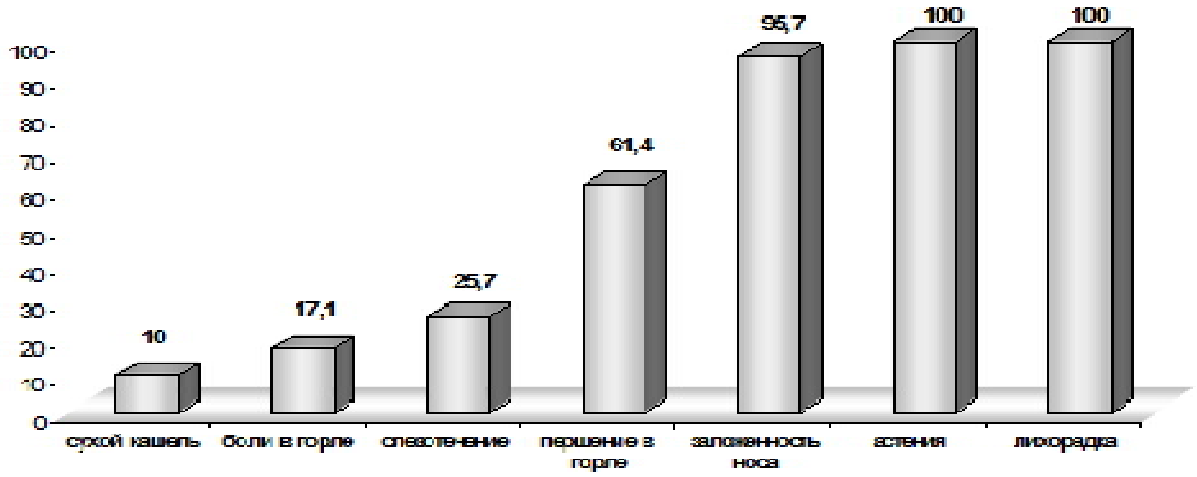

Рисунок 2 – Частота клинических проявлений продромального периода ветряной оспы у взрослых (%)

Объективные проявления периода высыпаний характеризовались выраженным общим инфекционным синдромом, лимфаденопатией (83 %), обильной полиморфной сыпью (у 35,6 % больных почти сплошь покрывала лицо и туловище), с длительностью подсыпаний от 2 до 8 дней. Отличительной особенностью сыпи была быстрая и обильная пустулизация, которая наблюдалась почти у половины больных (44,9 %), а у каждого третьего пациента сопровождалась кожным зудом. Одновременное поражение кожи и слизистой полости рта регистрировалось в 28,6 % случаев, слизистых половых органов – в 4,2 %. У 19,5 % больных в период разгара болезни высыпания наблюдались на конъюнктиве и сопровождались развитием склерита и конъюнктивита в течение 3-5 дней периода высыпаний. Лихорадочный период в неосложненных случаях длился (6,0 ± 2,0) дней, при развитии осложнений удлинялся до (9,0 ± 2,0) дней. В 8,5 % случаев на высоте интоксикации у пациентов выявлялись диспепсические нарушения: тошнота, рвота, жидкий стул.

Негладкое течение заболевания сопровождалось развитием осложнений:

неврологических (менингоэнцефалит, миелит) в 2,5 % случаев либо пневмонии (1,7 %).

Анализ изменений показателей периферической крови и иммунологических параметров больных ветряной оспой в разгар болезни и в период реконвалесценции позволил заключить следующее:

Острый период заболевания характеризовался развитием лимфопении, Т-иммунодефицита с нарушением дифференцировки субпопуляций, что, несомненно, отрицательно сказывалось на формировании адекватного противовирусного ответа, особенно, в совокупности с низкой функциональной активностью фагоцитирующих клеток. Следует обратить внимание и на продукцию иммуноглобулинов. Так, в острый период заболевания у больных отмечалось снижение концентрации IgA (-25,6 %, $p < 0,001$), при этом уровень IgM и IgG соответствуют уровню контроля. Снижение концентрации иммуноглобулина А может предрасполагать к вирусному поражению слизистых и кожи и способствовать тяжелому течению заболевания, требующему стационарного лечения.

Период реконвалесценции сопровождался нормализацией функционального состояния лимфоцитов. В первую очередь, следует отметить увеличение как абсолютного, так и относительного содержания лимфоцитов в крови не только по сравнению с острым периодом (60,3 %, $p < 0,001$; 29,6 %, $p < 0,001$), но и по сравнению с контрольной группой (22,2 %, $p < 0,001$; 16,1 %, $p < 0,05$).

Совокупность метаболических процессов, происходящих в лимфоцитах больных ветряной оспой в разгар заболевания, позволил следующим образом охарактеризовать функциональные возможности клеток в этот период болезни.

В разгаре заболевания у больных ветряной оспой средней степени тяжести активность ключевого фермента гликолиза и пентозофосфатного пути – Г6ФДГ – снижена по сравнению с уровнем контроля на 38,7 %, а при тяжелой степени тяжести активность Г6ФДГ была еще более низкой как по сравнению с группой здоровых лиц ($1,23 \pm 0,14$ и $2,74 \pm 0,31$; $p < 0,001$), так и с соответствующим параметром, полученным при среднетяжелом течении болезни ($1,23 \pm 0,14$ и $1,68 \pm 0,11$; $p < 0,05$).

Этот факт позволяет предположить, что конкуренция за субстрат гликолиза и пентозофосфатного пути приводит к обеднению последнего и ингибированию широкого спектра макромолеулярного синтеза. Снижение субстратной обеспеченности ПФП уменьшало возможности синтеза в лимфоцитах иммуноглобулинов, цитокинов и других синтезируемых ими веществ (рисунок 3).

С другой стороны, наблюдаемое значительное снижение интенсивности реакций начального этапа ЦТК уменьшало энергетическую эффективность цикла, зависимое от степени тяжести. Подтверждением этого служит уровень активности ферментов. Менее

активными определялись ферменты начального этапа ЦТК – НАД- и НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназы, особенно это выражено при тяжелой степени тяжести: показатель НАДИЦДГ равнялся 0,39 ± 0,03 (при средней степени тяжести – 0,52 ± 0,05; $p < 0,05$), а НАДФИЦДГ – 0,07 ± 0,01 (сравниваемая группа больных – 0,12 ± 0,02; $p < 0,05$).

Рисунок 3 – Механизмы формирования иммунного реагирования в разгар ветряной оспы у взрослых

Кроме этого, обращало на себя внимание то обстоятельство, что у больных в период разгара заболевания ветряной оспой изменялся привычный характер течения цикла Кребса. Известно, что этот цикл по своей продуктивности является основным источником энергопродукции лимфоцитов, превышающий возможности гликолиза в несколько раз. Энзиматические показатели отражают уменьшение количества изцитрата – субстрата, передающегося на реакцию, катализируемую ферментом НАДИЦДГ, с предшествующих этапов этого цикла или поступающего в него через АцКоА. В еще большей степени уменьшено дополнительное субстратное обеспечение ЦТК из цитозоля, которое осуществляется под контролем НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы.

При состояниях функционального напряжения, сопровождающего формирование иммунного ответа на возбудителя инфекции, адаптивно-приспособительные механизмы клеток направлены на то, чтобы максимально поддерживать именно его работу по выработке АТФ. У больных в разгар заболевания определялся способ дополнительного

(компенсаторного) снабжения ЦТК субстратами, который заключался в очень интенсивном поступлении на него метаболитов с аминокислотного обмена. Данный факт подтверждался значительным, по сравнению с уровнем контрольной группы, повышением активности двух ферментов, осуществляющих перенос этих метаболитов, – НАДГДГ (в 212,4 раза, $p < 0,001$) и НАДФГДГ (в 10 раз; $p < 0,001$). В работе данного механизма находит свое объяснение и активация фермента ГР (на 70,3 %, $p < 0,001$), который поддерживает повышенный транспорт аминокислот в лимфоциты. Результаты работы механизма дополнительного субстратного обеспечения ЦТК для повышения продукции энергетических эквивалентов находят свое отражение в том, что реакции заключительного этапа цикла становятся более интенсивными, о чем свидетельствовало увеличение в несколько раз активности соответствующих ферментов НАДМДГ (в 4,03 раза; $p < 0,001$) и НАДФМДГ (в 5,33 раза; $p < 0,001$).

Механизм повышения эффективности ЦТК за счет усиленного использования в нем субстратов аминокислотного обмена, вероятно, нельзя считать оптимальным, так как при его работе «нерационально» используются метаболиты, предназначенные не для энергопродукции в иммунокомпетентных клетках, а для обеспечения в ней синтетических и пластических процессов, необходимых для реализации иммунного ответа.

Низкая способность лимфоцитов больных ветряной оспой в разгар болезни к процессам синтеза и пролиферации подтверждалась изменениями показателей периферической крови и иммунологических параметров, как было отмечено выше.

Активность метаболических ферментов лимфоцитов после проведенного противовирусного лечения имела тенденцию к нормализации, но направленность выявленных отклонений сохранялась, а степень выраженности этих процессов незначительна. Исключение составили только фермент пентозофосфатного пути – уровень Г6ФДГ оставался ниже контрольного значения ($1,86 \pm 0,21$ и $2,74 \pm 0,31$; $p < 0,05$) и регуляторного фермента начального этапа цикла Кребса – НАДИЦДГ, активность которого снижалась не только по отношению к контролю, но и по отношению к острому периоду заболевания (-81,0 %, $p < 0,001$ и -26,3 %, $p < 0,05$).

Полученные данные позволили сделать заключение о том, что улучшение клинической картины, наблюдаемое в период реконвалесценции, не сопровождалось восстановлением функциональных возможностей лимфоцитов и, вероятно, иммунной системы в целом, что необходимо учитывать при оценке состояния пациентов и определения тактики лечения, а также при наблюдении за ними в период реконвалесценции (рисунок 4).

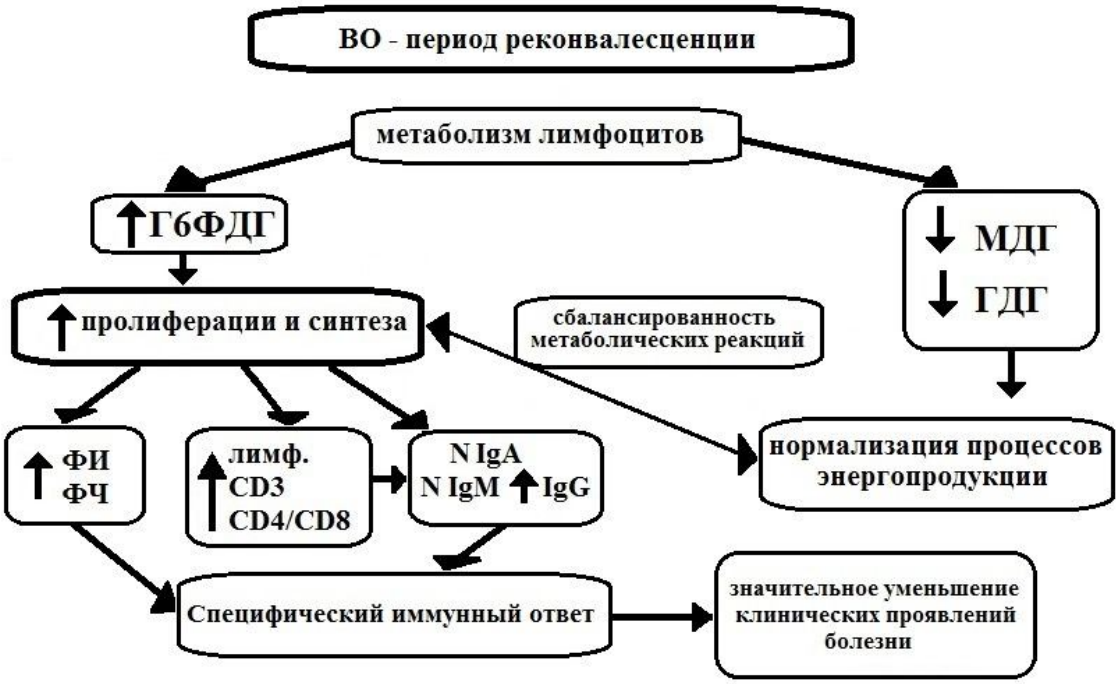

Рисунок 4 – Механизмы формирования иммунного реагирования у больных ветряной оспой в период выздоровления

Следует отметить, что в процессе проведенной терапии у больных возрастали пролиферативные способности клеток, что отразилось в существенном увеличении абсолютного количества лимфоцитов и популяций Т- и В-лимфоцитов, практической нормализации популяции NK-клеток ($CD3^-CD56^+CD16^+$), стимулирующих формирование иммунного ответа по клеточному типу за счет выработки цитокинов. На фоне проводимой противовирусной терапии у больных ветряной оспой снижалось в 2 раза ($p < 0,001$), по сравнению с острым периодом, долевое соотношение находящихся в терминальной стадии дифференцировки цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих $CD57^+$, однако превышение уровня контроля оставалось высоким (+93,0 %, $p < 0,001$). Этот факт в совокупности с увеличением общего числа Т-лимфоцитов еще раз характеризует возросшую пролиферативную активность этих клеток.

Выявлено значительное повышение в периферической крови концентрации IgG (на +40,01 %, $p < 0,001$), сопровождающееся активацией специфического противовирусного иммунитета и, вероятно, способствующего улучшению клинического состояния больных ветряной оспой. Важную роль IgG в иммунном ответе организма в период реконвалесценции подчеркивает и проведенный факторный анализ, результаты которого представлены в матрице факторных нагрузок, для которого нагрузочный коэффициет для данной группы пациентов составил $\eta = -0,9299$ ($p < 0,001$), а в других обследуемых группах значимого

влияния его не было выявлено.

Результаты корреляционного анализа также подтверждают представленную схему перестроек внутриклеточного метаболизма, происходящих в разгар заболевания ветряной оспой и в период его реконвалесценции. Взаимозависимости между показателями активности ферментов в лимфоцитах больных отражают и, до определенной степени, объясняют механизмы как ограничения энергопродукции в клетках, так и варианты их компенсации, в первую очередь – через использование в ЦТК субстратов аминокислотного обмена.

Полученные результаты дают основание заключить, что использование противовирусной терапии у больных ветряной оспой способствует определенной нормализации функционального состояния лимфоцитов. Однако восстановления их функциональной активности и иммуного статуса в целом не наблюдается, при этом сохраняются метаболические изменения в деятельности клеток, но степень их выраженности снижается по сравнению с периодом разгара заболевания.

Проведенные исследования у больных ветряной оспой продемонстрировали изменение энергообеспечения в клетках в условиях повышенной функциональной нагрузки на лимфоциты, поэтому использование метаболического корректора в комплексной терапии было обосновано. Подключение к базисной терапии метаболического препарата Цитофлавина, в состав которого входят вещества, участвующие в обменных процессах (янтарная кислота, рибоксин, никотинамид, мононуклеотид рибофлавина), обуславливая широкий спектр метаболических воздействий этого препарата, показало следующее. Дополнительное снабжение ЦТК сукцинатом, содержащемся в Цитофлавине, значительно повышала субстратный пул этого цикла, в том числе и на его начальных этапах, о чем свидетельствовали более высокие показатели НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназ (в 2,51 раза, $p < 0,001$ и 5,2 раза, $p < 0,001$) по сравнению с группой больных, находившихся на стандартной терапии. Подобным образом соотносились и другие показатели активности ферментов в лимфоцитах сравниваемых групп: показатель Г3ФДГ в 3,31 раза выше в группе с Цитофлавином, ЛДГ – активнее на 46,43 %, НАДМДГ – выше в 2,24 раза, НАДФМДГ – в 4,22 раза, а ГР – на 47,65 %. Только у НАДГДГ активность в лимфоцитах больных, принимавших Цитофлавин, оказалась ниже, чем в основной группе ($p < 0,001$), что указывало на уменьшение субстратного стимулирования реакций аминокислотного обмена и снижение уровня субстрактного потока по ЦТК. При проведении факторного анализа получены результаты, подтвердившие эффективность использования метаболического корректора в лечении ветряной оспы (рисунок 5). Установлено уменьшение числа функционально зависимых ($\eta>0,7$) переменных на фоне комбинированной терапии,

что демонстрировало увеличение степеней свободы в составляющих иммунной системы на фоне противовирусной и в сочетании с метаболической коррекцией.

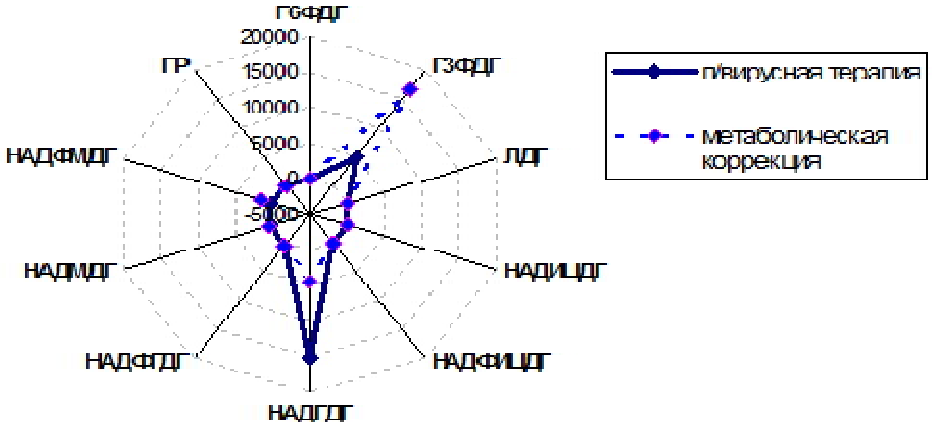

Рисунок 5 – Динамика активности метаболических ферментов в лимфоцитах у пациентов с ветряной оспой после проведенного лечения (% отклонения от уровня здоровых)

Следовательно, применение Цитофлавина в комплексном лечении больных ветряной оспой средней степени тяжести повысило возможности иммунокомпетентных клеток к процессам синтеза и пролиферации, способствуя формированию быстрого адекватного иммунного ответа на инфекционный агент.

Учитывая наличие достаточно частых осложнений при острых вирусных заболеваниях, в том числе и при ветряной оспе, представленные результаты исследования можно, по-нашему мнению, расценить как теоретическое обоснование возможности применения в комплексном лечении больных метаболической коррекции с целью создания оптимальных условий функционирования лимфоцитов и обеспечения полноценного иммунного ответа, предупреждения возможных осложнений заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Заболеваемость ветряной оспой в Красноярском крае характеризуется широким распространением как среди детского, так и взрослого населения, выраженной сезонностью с максимумом заболеваемости в зимне-весенний период (62 %); ведущим фактором возникновения заболевания – контактом с больными ветряной оспой (76,3 %).

2. Для ветряной оспы у взрослых характерным является наличие продромального периода, в разгаре болезни – выраженного интоксикационного синдрома, лимфаденопатии, обильной полиморфной сыпи, с длительностью подсыпаний от 5 до 8 дней, пустулезным характером сыпи у 45 % больных, кожным зудом у каждого третьего пациента. Одновременное поражение кожи и слизистых оболочек отмечалось в 29 % случаев, у 20 %

больных в период разгара болезни высыпания наблюдались на конъюнктиве. Негладкое течение заболевания проявлялось развитием неврологических (менингоэнцефалит, миелит) осложнений в 2,5 % случаев, либо пневмонии (1,7 %).

3. Острый период заболевания характеризовался развитием лимфопении, Т-иммунодефицитом с изменением дифференцировки субпопуляций Т-лимфоцитов и снижением их способности к пролиферации в совокупности с низкой функциональной активностью фагоцитирующих клеток. Отмечалось снижение продуктивной способности В-лимфоцитов, что проявлялось в уменьшении уровня IgA (на –25,6 %, $p < 0,001$) и могло способствовать обильному поражению слизистых и кожи.

4. В острый период заболевания у больных ветряной оспой снижение энергообеспечения клеток компенсаторно приводило к интенсификации гликолиза, а также дополнительному субстратному обеспечению цикла Кребса: поступлению субстратов окисления с аминокислотного обмена (повышение активности НАД- и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы соответственно в 212,4 раза и 10,0 раз).

5. Период реконвалесценции у больных ветряной оспой сопровождался относительной нормализацией функционального состояния лимфоцитов: увеличивалось их количество, активность большинства метаболических ферментов приближалось к уровню здоровых, возрастали пролиферативные способности Т- и В- лимфоцитов, отмечена нормализация NK-клеток, стимулирующих и обеспечивающих формирование адекватного иммунного ответа.

6. Использование метаболической коррекции на фоне противовирусной терапии у больных ветряной оспой привело к повышению энергообразования в клетках, изменило активность ряда ферментов (НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы и глицерол-3-фосфатдегидрогеназы), что повышало возможности иммунокомепетентных клеток к процессам синтеза и пролиферации и проявилось в клинике сокращением длительности лихорадки, периода подсыпания, купированию интоксикационных и диспепсических симптомов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявление пониженного содержания фермента пентозофосфатного пути – уровень Г6ФДГ и фермента цикла Кребса – НАДИЦДГ предложить в качестве дополнительного критерия в оценке тяжести и неблагоприятного течения ветряной оспы у взрослых.

2. Включение в комплексную терапию больных ветряной оспой препаратов на основе янтарной кислоты, оказывающих положительный эффект на процессы энергообразования в лимфоцитах, восстановление активности ферментов антиоксидантной

защиты, является патогенетически обоснованным для создания оптимальных условий функционирования иммуно-компетентных клеток и обеспечения полноценного иммунного ответа, предупреждения возможных осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Метаболические процессы в лимфоцитах больных при ветряной оспе / **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина**) [и др.] // **Журнал инфектологии.** – Т. 4, № 3. – 2012. – С. 42–45.

2. Случай тяжелого течения ветряной оспы у больного ВИЧ-инфекцией / **Е. П. Тихонова** [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // **Инфекционные болезни.** – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 100–102.

3. Особенности течения ветряной оспы у взрослого населения / **Т. Ю. Кузьмина** [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // **Сибирское медицинское обозрение. –** 2013. – № 2. – С. 72–75.

4. Характеристика параметров иммунного статуса у больных хронической герпетической инфекцией с формированием синдрома хронической усталости и иммунной дисфункцией / **Н. С. Пронькина** [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // **Фундаментальные исследования. –** 2013. – № 2. – С. 124–128.

5. Особенности метаболических процессов в лимфоцитах больных при вирусных инфекциях / **Е. П. Тихонова** [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // **Практическая медицина.** – 2014. – №7 (83). – С. 50–53.

6. Клинико-лабораторные показатели, характеризующие иммунную систему больных ветряной оспой / **Ю. С. Калинина** [и др.] // **Эпидемиология и инфекционные болезни.** – 2017. – Т. 22, № 4. – С. 190–194.

7. Анализ экспрессии CD57 и CD279 цитотоксическими т-лимфоцитами различного уровня дифференцировки у больных ветряной оспой / **Ю. С. Калинина** [и др.] // **Инфекционные болезни.** – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 48–52.

8. **Калинина, Ю. С.** Метаболическая иммунокоррекция в комплексном лечении больных ветряной оспой / **Ю. С. Калинина,** Е. П. Тихонова, Л. А. Камзалакова // **Экспериментальная и клиническая фармакология. –** 2019. – Т. 82, № 6. – С. 30–34.

9. Экзантемные маски при некоторых вирусных инфекционных заболеваниях у взрослых / Е. П. Тихонова [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // БСМП. – 2015. – № 2. – С. 31–34.

10. Экзантемы в практике врача-инфекциониста / Е. П. Тихонова [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии : сборник статей. – Красноярск, ООО ИД Класс Плюс, 2016. – С. 212–218.

11. Ветряная оспа у взрослых / Е. П. Тихонова [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 4. Приложение. – С. 114.

12. **Тихонова, Ю. С. (Калинина Ю.С.)** Особенности иммунного статуса у больных с ветряной оспой / **Ю. С. Тихонова**, Г. В. Булыгин, Н. И. Камзалакова // Материалы 3-го Всеросс. конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2011. – С. 365.

13. **Тихонова, Ю. С. (Калинина Ю. С.)** Активность метаболических процессов в лимфоцитах взрослых больных ветряной оспой / **Ю. С. Тихонова** // 4-й конгресс по инфекционным болезням, Москва, 26–28 марта 2012 г : материалы // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10, прил. 1. – С. 379.

14. Опыт из практики: желудочное кровотечение как первый симптом ДВС-синдрома в случае летального исхода при ветряной оспе / Т. Ю. Кузьмина [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга : материалы 14-го Междунар. Славяно-Балтийского науч. форума. – Санкт-Петербург, ООО Аванетик, 2012. – С. 48.

15. Особенности течения ветряной оспы у взрослых / Т. Ю. Кузьмина [и др., в том числе **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)**] // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 1, № 3. Приложение. – С. 397.

16. Метаболический статус лимфоцитов крови у больных ветряной оспой / **Ю. С. Тихонова (Ю.С. Калинина)** [и др.] // Молекулярная диагностика 2014 : сб. науч.тр. 8-й Всеросс. науч.-практ. конф. с Международным участием. – Москва, ООО Издательство МБА, 2014. – Т. 2., разд. 24. – С. 376–377.

17. Клинический пример тяжелого течения ветряной оспы с поражением нервной системы / **Ю. С. Тихонова (Ю. С. Калинина)** [и др.] // Инфекционные болезни. – 2014. – Т. 12, приложение. 1. – С. 308–309.

18. **Тихонова, Ю. С. (Калинина Ю.С.)** Клинико-иммунологические особенности ветряной оспы у взрослого населения / **Ю. С. Тихонова**, Т. Ю. Кузьмина, Г. В. Булыгин // Материалы межрегион. науч.-практ. конф., посвященной 85-летию Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей. – Новокузнецк. – 2011. – С. 111–114.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВО	– ветряная оспа
ГР	– глутатионредуктаза
Г3ФДГ	– глицерол-3-фосфатдегидрогеназа
Г6ФДГ	– глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ИКК	– иммунокомпетентные клетки
Ig A, M, G	– иммуноглобулины A, M, G
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
НАД	– никотинамидадениндинуклеотид
НАДГДГ	– НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа
НАДИЦДГ	– НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа
НАДМДГ	– НАД-зависимая малатдегидрогеназа
НАДФ	– никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НАДФГДГ	– НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа
НАДФИЦДГ	– НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа
НАДФМДГ	– НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа
ПФП	– пентозофосфатный путь
CD3+	– Т-лимфоциты
CD4+	– Т-хелперы
CD8+	– Т-цитотоксические/супрессоры
CD19+	– В-лимфоциты
CD3+CD56+CD16-	– NKT-клетки
Т-ИД	– Т-иммунодефицит
ФИ	– фагоцитарный индекс
ФЧ	– фагоцитарное число
ЦТК	– цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса)