

на правах рукописи

**КОЩЕВЕЦ ЕКАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА**

**КОРРЕКЦИЯ ФЕНИОЛЬСОМ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА  
И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ  
В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ КЛЕЩЕВЫХ НЕЙРОИНФЕКЦИЯХ**

**14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Томск - 2002**

## СОКРАЩЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В РАБОТЕ

ГП	— глутатионпероксидаза
ДК	— диеновые конъюгаты
ИКБ	— иксодовый клещевой боррелиоз
КА	— каталаза
КНТ	— коэффициент насыщения трансферинем
КЭ	— клещевой энцефалит
ЛЖСС	— латентная железосвязывающая способность
ЛФХ	— лизофосфатидилхолин
МДА	— малоновый диальдегид
ОШ	— основания Шиффа
ОЖСС	— общая железосвязывающая способность
СМ	— сфингомиелин
СОД	— супероксиддисмутаза
ТК	— триеновые конъюгаты
$\alpha$ -ТФ	— $\alpha$ -токоферол
ФИ	— фосфатидилинозитол
ФХ	— фосфатидилхолин
ФЭА	— фосфатидилэтаноламин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

При **инфекционно-воспалительных** заболеваниях наблюдается относительный дефицит железа в организме, что может приводить к развитию **анемических состояний**. Среди причин повреждения клеток красной крови при **клещевых нейроинфекциях** может быть нарушение метаболизма в эритроцитах, вызванное изменением состава и свойств мембран (Морозов Н.А., 1996).

Наличие в патогенезе **клещевых нейроинфекций (иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит, микст инфекция)** повреждения сосудистой стенки может усугубить течение этих заболеваний, оказывая влияние на эритроциты периферической крови, что отражается на клиническом течении как основного заболевания, так и сопутствующей патологии (Зиганьшина Р.Г., 1943; Коваленко В.Н., Семенов В.А., 1998).

Наблюдения разных лет в Западно-Сибирском регионе выявили изменения показателей периферической крови в остром периоде **клещевого энцефалита**, которые характеризовались умеренной анемией у четверти больных (Верета Л.А., 1963; Кантер В.М., 1965). В Кемеровской области З.И. Вежеватова (1965) отмечала снижение уровня гемоглобина у **44–48%** и эритропению у **60%** больных. Полное восстановление гематологических показателей у этих пациентов наблюдалось только через 3 года. При исследовании **эритрограмм** было выявлено, что красный росток костного мозга претерпевал изменения, связанные со снижением **эритропоэтической** функции, что сопровождалось снижением **эритробластов**, снижением индекса созревания этих элементов костного мозга. Имеются предположения о том, что в разные годы и в разных очагах картина крови у больных не была тождественной (Шаповал А.Н., 1980).

А.В. Еремян (1960), изучая кровь больных при **менингеальной** форме клещевого энцефалита, установил, что в разгар болезни количество эритроцитов существенно не менялось, а во второй период заболевания, после исчезновения **менингеальных** симптомов, выступала тенденция к некоторому их снижению.

Нарушения в **эритропозе** могут приводить к утяжелению течения инфекционных процессов. Существенной медико-социальной проблемой является увеличение случаев хронизации болезни и нередко связанной с этим **инвалидизации** пациентов. В связи с этим, клиническая и социальная значимость изучения клещевых **нейроин-**

фекций, а также поиск эффективных методов **коррекции** возникающей анемии представляется очевидным (Лобзин Ю.Б., 2000; Иерусалимский А.П., 2001).

**Цель работы.** Исследовать выраженность анемического синдрома и процессов перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов и изучить возможность их коррекции **фенюльсом** у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией.

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить показатели, характеризующие анемический синдром: гемоглобин, эритроциты, сывороточное железо, общую **железосвязывающую** способность, **цветовой** показатель у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией. Изучить возможные различия в формировании изменений показателей крови у этих больных.

2. Выявить состояние активности процессов **свободнорадикального** окисления липидов мембран эритроцитов по содержанию в них диеновых и триеновых **конъюгатов**, оснований Шиффа, малонового **диальдегида** у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией.

3. Изучить состояние антиоксидантной системы — активности **каталазы**, **супероксиддисмутазы**, **глутатионпероксидазы**, концентрации  **$\alpha$ -токоферола** в эритроцитах, содержание церулоплазмينا, активности каталазы в сыворотке крови у больных с клещевыми **нейроинфекциями** в динамике заболевания.

4. Исследовать состав липидов, содержание общих липидов, фракций холестерина, общих фосфолипидов в мембранах эритроцитов у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией.

5. Выявить эффективность применения **фенюльса** в комплексном лечении больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией в качестве корректора анемии.

#### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное изучение показателей, характеризующих развитие анемического синдрома у больных с **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией и выявлены общие закономерности и различия в формировании дестабилизации мембран эритроцитов.

Показано, что у этих больных анемия сопровождается **нарушением** в системе перекисного окисления липидов эритроцитов, антиоксидантной защиты организма и изменения **фосфолипидного** состава мембран эритроцитов. При данной патологии, сопровождающейся увеличением перекисного окисления липидов, применение **фенюльса**, содержащего в своем составе двухвалентное железо, не индуцирует дальнейший рост этих процессов.

Показана эффективность применения **фенюльса** при использовании его в комплексном лечении у больных с пониженным содержанием гемоглобина в периферической крови при иксодовом клещевом **боррелиозе**, клещевом энцефалите, микст инфекции с целью коррекции анемического **синдрома**, наряду с основной терапией.

### Практическое значение

На основе проведенных исследований разработаны практические рекомендации по использованию фенюльса в комплексном лечении больных **иксодовым** клещевым **боррелиозом**, клещевым энцефалитом, микст инфекцией с анемией легкой степени. Полученные данные свидетельствуют об изменении состояния мембран эритроцитов при изучаемых нами заболеваниях и дают возможность своевременной коррекции в комплексной терапии с применением фенюльса в случаях развивающейся анемии у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией, предотвращая переход этого осложнения в хроническую форму.

### Внедрение

Результаты настоящих исследований внедрены в комплексное лечение **больных** иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией на базе клиники инфекционных болезней СГМУ г. Томска.

### Положения, выносимые на защиту

1. У больных с клещевыми **нейроинфекциями** развитие анемии наблюдается в **15-22% случаях**, что выражается в снижении концентрации **гемоглобина**, количества эритроцитов, сывороточного **железа**, ОЖСС. Развивающаяся анемия является **нормохромной, нормоцитарной** в 98% случаев и характеризуется как анемия легкой степени.

2. При различных нозологических формах изучаемых нами **нейроинфекций** изменения происходят с различной интенсивностью, степень которой определяется понижением содержания **гемоглобина**, снижением количества эритроцитов в перифери-

ческой крови, снижением содержания сывороточного железа и общей железосвязывающей способности сыворотки крови.

3. Применение фенюльса в качестве корректора в случаях развивающейся анемии оказывает нормализующее воздействие как на показатели периферической крови (концентрация гемоглобина, количество эритроцитов), показателей обмена железа (концентрация сывороточного железа, ОЖСС), так и на состояние продуктов перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты в эритроцитах, включая стабилизацию фосфолипидного спектра мембран.

#### Апробация работы

Материалы диссертации были представлены на Всероссийском конгрессе «Полимерная цепная реакция в динамике и контроле лечения инфекционных заболеваний» (Москва, 1998 г.), VI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 1999 г.), международном симпозиуме «Медицина и охрана здоровья» (Москва, 1999 г.), Российско-итальянской конференции «Инфекционные болезни, диагностика, лечение, профилактика» (С.-Петербург, 2000 г.), I международной юбилейной конференции «Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии» (Томск, 2001 г.), VI Всероссийской конференции «Биоантиоксидант» (Москва, 2002 г.). Результаты работы были обсуждены на заседании кафедры биохимии и молекулярной биологии СГМУ (Томск, 2001, 2002 гг.).

#### Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Исследования, приведенные в диссертации, представлены в 24 таблицах, иллюстрированы 10 рисунками. Библиографический указатель содержит 241 источник (162 отечественных и 79 зарубежных авторов).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ.

В настоящей работе представлены обследования 264 больных, в том числе 82 с **иксодовым** клещевым боррелиозом, 89 — с клещевым энцефалитом, 93 — с микст инфекцией. Возраст больных от 17 до 55 лет, мужчин 159 (62,2%), женщин 105 (38,8%).

Среди заболевших иксодовым клещевым боррелиозом мужчины составляли 32%, женщины - 68%. Преимущественных возрастных категорий не выявлено. Эритемная форма заболевания являлась преобладающей. Основными формами течения заболевания являлись средняя (78%) и легкая степень (22%). Для подтверждения клинического диагноза у больных с иксодовым клещевым боррелиозом использовали **иммуноферментный анализ (ИФА)** с очищенными антигенами **боррелий**, а также **рекомбинантных** антигенов, обуславливающих высокую степень специфичности теста; реакцию непрямой флуоресценции (нРИФ).

С заболеванием клещевой энцефалит лица мужского пола составляли 71%, женского пола — 29% в возрасте 25-56 лет. У 90% больных установлена средняя степень тяжести течения заболевания. При клещевом энцефалите иммунологический диагноз устанавливался на основании выявления нарастания титра антител в парных сыворотках крови больного методом ИФА.

Клиническая картина смешанной инфекции характеризуется в большинстве случаев доминированием **признаков** одного заболевания и практически никогда нет сочетания их клинических симптомов у одного больного. Из клинических симптомов на первый план выступают симптомы общей инфекционной интоксикации. Обращает на себя внимание более легкое течение заболевания микст инфекции, что выражается в более частой регистрации стертой формы клещевого энцефалита.

Для оценки состояния здоровья больных была заведена индивидуальная карта, в которую вносились сведения о больном, клинический диагноз, эпиданамнез, клинические симптомы, лечение, лабораторные исследования, специфические исследования.

Критерием анемии принято снижение концентрации гемоглобина у мужчин ниже 130 г/л, у женщин - ниже 120 г/л. (ВОЗ, 1989 г.). Анализ показал, что клинические проявления анемии легкой степени выраженности (слабость, утомляемость, головокружение, плохой аппетит), как правило, объяснялись следствием основного заболевания.

Стандартное лечение при **иксодовом** клещевом боррелиозе включало **антибиотикотерапию** в различных схемах; при клещевом энцефалите - противовирусную терапию в различных схемах; при микст **инфекции** - сочетание противовирусной и антибактериальной терапии в различных схемах (табл. 1).

Таблица 1

Схемы лечения больных

Иксодовый клещевой боррелиоз	Антибиотикотерапия (пенициллин 500 тыс. <b>в/м</b> 14 дней или доксициклин 0,1 <b>в/в</b> 2 раза в день 14 дней, затем бициллин-5 <b>в/м</b> 3 млн. 1 раз)
	Антибиотикотерапия + йодантипирин (пенициллин 500 тыс. <b>в/м</b> 14 дней или доксициклин 0,1 <b>в/в</b> 2 раза 14 дней, затем бициллин-5 <b>в/м</b> 3 млн. 1 раз; йодантипирин 0,1 в сутки в течение 7 дней)
Клещевой энцефалит	Авирин (5,0 <b>в/в струйно</b> , однократно, в течение двух дней)
	Авирин + рибонуклеаза (авирин 5,0 <b>в/в струйно</b> , однократно, в течение двух дней; рибонуклеаза 0,03 <b>в/м</b> 6 раз в сутки 5 дней)
	Авирин + йодантипирин (авирин 5,0 <b>в/в струйно</b> однократно в течение 2 дней; йодантипирин 0,2 в сутки в течение 5 дней)
Микст инфекция	Антибиотикотерапия + авирин (пенициллин 500 тыс. <b>в/м</b> 14 дней или доксициклин 0,1 <b>в/в</b> 2 раза 14 дней, затем бициллин-5 <b>в/м</b> 3 млн. 1 раз; авирин 5,0 <b>в/в струйно</b> однократно в течение 2 дней)
	Антибиотикотерапия + йодантипирин (пенициллин 500 тыс. <b>в/м</b> 14 дней или доксициклин 0,1 <b>в/в</b> 2 раза, 14 дней, затем бициллин-5, <b>в/м</b> 3 млн. 1 раз; йодантипирин 0,1 в сутки в течение 7 дней)

В пробах крови исследовали:

1) концентрацию **гемоглобина**, количество эритроцитов, цветовой показатель, концентрацию сывороточного железа, общую железосвязывающую способность (ОЖСС), латентную железосвязывающую способность, коэффициент насыщения **трансферрином**;

2) в мембранах эритроцитов показатели **перекисного** окисления липидов, включающих определение содержания диеновых **коньюгатов**, триеновых **коньюгатов**, оснований Шиффа, малонового **диальдегида**, индекса **окисленности**;



3) показатели **антиоксидантной** защиты, включающие определение активности **каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы**, содержание **α-токоферола**; в **эритроцитах**, активность каталазы, концентрацию церуллоплазмина в сыворотке крови;

4) **липидный** состав мембран эритроцитов, включающий определение содержания общих **липидов**, общих **фосфолипидов, холестерина**, спектра **фосфолипидов** мембран **эритроцитов**.

Использование этих методик позволило объективно охарактеризовать изменения, происходящие на уровне мембран эритроцитов у больных с анемией при иксодовом клещевом **боррелиозе**, клещевом энцефалите, микст инфекции.

Определение концентрации гемоглобина проводили **цианметгемоглобиновым** методом, количество эритроцитов определяли фотометрически в 9,0 мл 3% **NaCl** и 0,02 мл крови при 670 **нм** (**Кост Е.А.**, 1968).

Концентрацию сывороточного **железа**, **ОЖСС**, определяли с использованием стандартных наборов «Vital Diagnostics» (Санкт-Петербург) (**Колб В.Г.** и соавт., 1982).

Определение белка проводили **микробиуретовым** методом (**Itzhaki R.**, **Gill D.M.**, 1964; **Кочетов Г.А.**, 1980).

Состояние процессов **перекисного** окисления липидов оценивали по:

1) содержанию диеновых, **триеновых конъюгатов**, определяемых **спектрофотометрически** (**Plazer Z.**, **Kuzela L.**, 1968; **Гаврилова В.Б.** и соавт., 1983), индекса **окисленности** липидов (**Лебедев А.С.** и соавт., 1995);

2) содержанию оснований **Шиффа**, определяемых **спектрофлуориметрически** (**Tappel A.I.**, 1978);

3) содержанию малонового **диальдегида** в реакции с **тиобарбитуровой** кислотой (**Владимиров Ю.А.** и соавт., 1972; **Андреева Л.И.** и соавт., 1988).

Состояние антиоксидантной системы оценивали по:

1) **активности** каталазы по методу **М.А Королук** (1988);

2) определению активности глутатионпероксидазы **спектрофотометрически** (**Little C.**, **O'Brien P.I.**, 1968; **Гаврилова А.П.** и соавт., 1986);

3) определению активности супероксиддисмутазы спектрофотометрически (**Брусов О.Г.** и соавт., 1976; **Fridovich I.**, 1981; **Oberley L.V.**, 1985);

4) содержанию  $\alpha$ -токоферола спектрофлюориметрически (Duggan D.E., 1959; Досон Р. и соавт., 1991);

5) определению концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови по методу Н.А. Ravin (Колб В.Г. и соавт., 1982).

Определение общих липидов проводили по методу Кнайта и соавт. (1972) с фосфорнованилиновым реактивом, количество общих фосфолипидов определяли по содержанию в них липидного фосфора (Колб В.Г. и соавт., 1982), липиды экстрагировали по методу J. Folch (1957) Разделение фракций фосфолипидов проводили на пластинах «Silufol UV254» (Финдлей. Э., 1991).

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета программ «Statistica-5». Для оценки статистической Достоверности использован *t*-критерий Стьюдента с определением средней арифметической ( $X$ ) и её стандартной ошибки ( $m$ ), при условии нормального распределении признаков. Проверка нормальности проведена с помощью показателей асимметрии и эксцесса. При распределении, отличающемся от нормального, результаты обработаны непараметрическим критерием Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считались достоверными при  $P < 0.05$  (Гмурман В.Е., 1977; Лакин Г.Ф., 1990; Михайлов А.Г. и соавт., 1998).

Все больные с пониженным содержанием гемоглобина в каждой нозологической единице (иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит, микст инфекция) были разделены на 2 группы. В группу I вошли больные, получавшие стандартное лечение, в группу II — больные, получавшие стандартное лечение, сопровождающееся назначением фенюльса после двух недель терапии. Фенюльс (м.н.н., фирмы «Ranbaxy»), назначался по одной капсуле (45 мг) в день после еды в течение 2 недель.

Контрольную группу составили 24 практически здоровых человека, у которых не выявлено перечисленных выше заболеваний.

Первое исследование проводилось в период разгара болезни (до начала лечения), второе — в первой фазе периода реконвалесценции (через 2 недели), третье — перед выпиской из стационара после лечения (через 4 недели). Сравнивались показатели лечения в группе I и группе II (табл. 2).

Распределение больных по группам наблюдения и периодам обследования

Группы наблюдения				
Диагноз	Количество обследованных больных	Периоды наблюдения	Группа I	Группа II
			Стандартное лечение	Стандартное лечение, фенюльс
			Количество больных	
<b>Иксодовый клещевой боррелиоз</b>	82	До начала лечения	9	9
		Через 2 недели	8	9
		Через 4 недели	9	9
Клещевой энцефалит	89	До начала лечения	9	9
		Через 2 недели	9	9
		Через 4 недели	9	9
Микст инфекция	93	До начала лечения	7	7
		Через 2 недели	7	7
		Через 4 недели	7	7
Здоровые	24			

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного нами исследования подтвердили наличие **изменений** количественных показателей эритроцитов у больных иксодовым **клещевым боррелиозом**, клещевым **энцефалитом**, микст инфекцией и позволили выявить общие тенденции развития исследуемых **патологических процессов**.

Было отмечено, что среди пациентов с **иксодовым** клещевым боррелиозом анемия легкой **степени** регистрируется в 22% **случаев**. Она **характеризуется** снижением гемоглобина ниже **130 г/л** у мужчин и **ниже 120 г/л** у **женщин**, **уменьшением количества эритроцитов**, снижением **концентрации** сывороточного железа и ОЖСС, имеет нормохромный » нормоцитарный **характер**. Величина цветового **показателя соответствовала**  $0,90 \pm 0,05$  у мужчин и  $0,95 \pm 0,06$  — у женщин. У больных с клещевым энцефалитом в 20% случаев отмечалось статистически значимое снижение концентрации **гемоглобина**, количества **эритроцитов**; концентрации **сывороточного** железа, ОЖСС. Величина цветового **показателя соответствовала**  $1,05 \pm 0,05$  у мужчин и  $0,92 \pm 0,06$  — у **женщин**. У больных с микст инфекцией эти **изменения** отмечены в 15% случаев. Величина цветового показателя **соответствовала**  $0,95 \pm 0,03$  у мужчин и  $0,91 \pm 0,05$  — у женщин. **Надо отметить**, что величина **цветового** показателя не выходила за пределы общепринятой гематологической **нормы**.

Наряду с этим выявлено, что у мужчин **понижение концентрации** гемоглобина **было более** выраженным, чем у женщин, и **составляло 18–20%** по отношению к аналогичным показателям у здоровых лиц; количество **эритроцитов** уменьшалось на 9%, концентрация **сывороточного** железа на 32–37% **соответственно**. У **женщин** эти **показатели** были снижены до **14–16%, 6–8%, 30–35%** соответственно.

**Возникновение** анемического состояния **чаще наблюдалось** у больных с иксодовым клещевым боррелиозом и клещевым энцефалитом, однако, среднее **значение** гемоглобина у больных с клещевым энцефалитом в **период** разгара заболевания было более низким по сравнению с контролем, чем у больных с **иксодовым клещевым боррелиозом** и микст **инфекцией**.

При анализе **показателей перекисного окисления** липидов в мембранах эритроцитов у больных с иксодовым клещевым **боррелиозом** в период проявления острых симптомов заболевания **было** выявлено увеличение **содержания ДК в 3,5 раза, ТК и ОШ — в 2 раза. Содержание МДА было увеличено в 1,6 раза, а индекс окисленно-**

сти, отражающий долю липидов, окисленных до ДК в мембранах эритроцитов **также** повышен по сравнению с показателями у здоровых лиц. У больных с клещевым энцефалитом в этот период содержание ДК и ТК, в мембранах эритроцитов было увеличено в **2 раза**, ОШ — в 1,2 раза, МДА — в **1,6** раза. У больных с микст инфекцией было выявлено увеличение содержания ДК в 3 раза, ТК — в 3,2 раза, ОШ — в **1,2** раза, МДА — в 1,6 раза, показатель ИО был увеличен в 1,3 раза. Усиление процессов ПОЛ свидетельствует о развитии субкомпенсационных и **декомпенсационных** стадиях развития инфекционной патологии в остром периоде заболевания. Инфекционный процесс приводит к изменению всех параметров **регуляторной** системы клетки. Усиление окислительных превращений приводит к накоплению продуктов перекисного окисления липидов.

Состояние **антиоксидантной** защиты крови обеспечивает устойчивость к воздействию различных повреждающих факторов. Результаты исследования активности **каталазы** в эритроцитах у больных с иксодовым клещевым **боррелиозом** (у мужчин и у женщин) показали, что активность этого фермента в эритроцитах увеличена в период острой фазы заболевания. В сыворотке крови активность **каталазы также** была повышена в **период** разгара клинических симптомов, У больных клещевым энцефалитом **активность** каталазы в эритроцитах у мужчин в этот период не изменялась, а у женщин она была снижена на 33%. В сыворотке крови активность каталазы у мужчин была увеличена в 2 раза, а у женщин активность этого фермента не изменялась. У больных микст инфекцией активность каталазы у мужчин была снижена **в 2 раза**, а у женщин этот показатель оставался стабильным. В сыворотке крови у мужчин активность каталазы не **претерпевала** значимых изменений по сравнению с контролем, а у **женщин активность** этого фермента была увеличена в 2 раза. При иксодовом клещевом **боррелиозе активность глутатионпероксидазы (ГП)** у мужчин до начала лечения была снижена, а у женщин увеличена в 2 раза по сравнению с показателями у здоровых лиц. При клещевом энцефалите активность ГП у мужчин была увеличена на **19%**, а у женщин — на 20% соответственно. У больных с микст инфекцией активность ГП **не** отличалась от соответствующих показателей у здоровых лиц. В период острых проявлений заболевания активность СОД в мембранах эритроцитов у больных иксодовым клещевым боррелиозом была увеличена в 2 раза. Активность СОД у больных с клещевым энцефалитом в этот период не имела статистически зна-

**чимых** отличий от аналогичных показателей у здоровых лиц. При микст **инфекции** активность СОД у мужчин не изменялась, а у женщин была увеличена более чем в 2 раза. Содержание **α-токоферола** у больных с иксодовым клещевым **боррелиозом** в острый период заболевания у мужчин не было изменено, а у женщин было снижено на 20%. У больных клещевым энцефалитом и микст **инфекцией** в период острых проявлений заболевания содержание **α-токоферола** не было изменено, что говорит о функциональной устойчивости внешней плазматической мембраны эритроцитов в этот период. Это можно расценивать как сохранение компенсаторных механизмов и выходом его в кровь из органов резервирования.

Значительные изменения претерпевает система **антиоксидантных ферментов**, играющих важную роль в поддержании **окислительно-восстановительного** гомеостаза клеток красной крови. Отмечено, что при иксодовом **клещевом боррелиозе** усиление процессов перекисного окисления **липидов** сопровождалось достаточно высокой активностью **каталазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы** в эритроцитах в период острой фазы заболевания. Тем не менее, в этот период заболевания наблюдалось снижение содержания а-ТФ в мембранах эритроцитов, что, может быть причиной **активации лизосомальных ферментов** и повышения чувствительности к **перекисному** гемолизу. При клещевом энцефалите и микст инфекции снижения а-ТФ в этот период не наблюдалось.

Известно, что **перекисному** окислению подвергаются в первую очередь **фосфолипиды**, содержащие в своем составе значительно больше ненасыщенных жирных кислот, чем нейтральные **липиды**. В этой связи необходимо было проследить за относительным **содержанием** отдельных липидных фракций в изучаемых нами группах.

Результаты исследования методом тонкослойной хроматографии показывают, что количество общих фосфолипидов колеблется в пределах **51–62 %**, холестерина **40–50 %**. Исследование отдельных фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов в процессе развития инфекционного **процесса** выявило изменения в их составе. При иксодовом клещевом боррелиозе в остром периоде заболевания у мужчин были выявлены изменения в увеличении фракции **ФХ** и снижении фракций **ФС, ФИ**. Наиболее **стабильными** фракциями оказались **СМ** и **ЛФХ**, которые составляют **12–15 %** и **3–4 %** соответственно от общего количества липидов. У женщин наиболее лабильной оказалась **фракция ФЭА**, которая составляла **31–35 %** от общего количества липидов.

У мужчин с клещевым энцефалитом в острый период заболевания наблюдалось снижение фракции ФХ, у женщин наблюдалось снижение фракций СМ и ФХ, увеличение фракции ФЙ. У мужчин с микст инфекцией изменениям подвергалась фракция ФИ, у женщин фракций ФС, ФЭА.

Интенсификация процессов регенераций и разрушения эритроцитов в организме непосредственно связана с характерными качественными и количественными изменениями **липидов** в **эритроцитарных** мембранах. Усиление реакции ПОЛ в эритроцитах происходит на **фоне** снижения активности защитных антиокислительных систем **клетки**. Известно, что **увеличение** количества **фосфолипидов**, в состав которых входят ненасыщенные жирные кислоты, приводит к понижению микровязкости, к разжижению **липидного** компонента мембран, изменению характера **липид-белковых** взаимодействий, ускорению **тех** ферментных реакций, для которых данные **фосфолипиды** являются эффекторами (Сторожек Н.М., 1997). **Они** выполняют роль модуляторов **функциональной активности клетки**. Однако повышенное содержание в мембранах **ненасыщенных жирных кислот** при определенных условиях приводит к **интенсивному** развитию реакций перекисного окисления и **повреждению** клеточных структур.

**Повышение** процессов проницаемости мембран **эритроцитов** и выход из них субстратов и ферментов сопряжены с интенсификацией процессов **свободнорадикального окисления** липидных структур красных клеток крови на фоне нарушения их **антиоксидантной** клеточной защиты.

Таким образом, выявлено, что возникновение анемических состояний чаще наблюдалось у больных с **иксодовым** клещевым **боррелиозом**, хотя у этих у больных вышеперечисленные показатели отличались меньшей степенью выраженности по сравнению с **большими** клещевым энцефалитом и микст инфекцией.

Величина цветового **показателя** не выходила за пределы общепринятой гематологической нормы. У больных **отмечалось** развитие **нормохромной** анемии. На долю анемии легкой степени приходилось 98%. **Анемический** синдром, как правило, нарастал в течение первых двух **недель** после начала заболевания.

Из вышеизложенного следует, что изучение изменений, происходящих в клетках красной крови имеет важное клиническое значение для обнаружения в них изменений еще **до** начала регистрируемых клинически признаков анемии, так как симптомы интоксикации маскируют вполне вероятный процесс нарушений в эритроцитах. Отсюда

вытекает целесообразность **выбора**, наряду с комплексным лечением, дифференцированных методов коррекции состояния этого звена **эритрона**.

Опыт применения **фенюльса** у больных с **иксодовым** клещевым **боррелиозом** после двух недель от начала стандартной терапии выявил статистически значимое ( $P < 0,05$ ) увеличение концентрации гемоглобина, количества **эритроцитов**, **сывороточного железа**, ОЖСС в группе II по сравнению с группой I, в которой этот препарат не применялся. У больных с клещевым энцефалитом так же наблюдалось статистически значимое увеличение **гемоглобина**, сывороточного **железа**, ОЖСС в группе II, по сравнению с группой I. У больных микст инфекцией в группе II отмечалось достоверное увеличение концентрации **гемоглобина**, количества эритроцитов, сывороточного **железа**, ОЖСС по сравнению с **больными** до лечения ( $P < 0,05$ ). Исследуемые показатели достигали уровня аналогичных значений у здоровых лиц (табл. 3).

Таблица 3

Динамика концентрации **гемоглобина** (г/л), в периферической крови у больных иксодовым клещевым **боррелиозом**, клещевым **энцефалитом**, микст инфекцией ( $\bar{X} \pm m$ )

Диагноз	Пол	Больные до лечения	Больные после лечения	
			Группа I	Группа II
<b>Иксодовый</b> клещевой <b>боррелиоз</b>	Мужчины	125,3±4,5	135,2±3,5*	147,6±4,6 <sup>∞</sup>
	Женщины	117,5±3,5*	129,0±3,5 <sup>^</sup>	137,8±3,7 <sup>∞</sup>
Клещевой энцефалит	Мужчины	121,5±3,1*	130,6±3,5 <sup>^</sup>	144,6±5,6 <sup>*∞</sup>
	Женщины	114,7±4,3*	125,7±3,9*	137,5±3,4 <sup>∞</sup>
Микст инфекция	Мужчины	123,3±4,5*	135,6±3,1*	150,8±3,3 <sup>∞</sup>
	Женщины	117,6±3,7*	128,7±2,2 <sup>^</sup>	137,8±3,2 <sup>∞</sup>
Здоровые	Мужчины		151,2±4,6	
	Женщины		135,5±4,2	

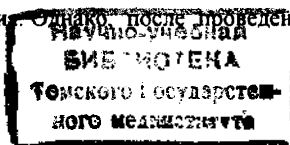
Примечание к таблицам 3, 4, 5:

\* —  $P < 0,05$  по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц;

<sup>^</sup> —  $P < 0,05$  по сравнению с аналогичными показателями у больных до лечения;

<sup>∞</sup> —  $P < 0,05$  по сравнению с **аналогичными** показателями у больных группы I

Изучение основных механизмов дестабилизации клеточных мембран позволило установить повышение активности процессов ПОЛ у больных с изучаемыми инфекциями в острый период **заболевания**. Однако, после проведения терапии **фенюльсом**





наблюдалось **значимое** снижение ( $P < 0,05$ ) содержания **МДА** по сравнению с группой I, где данная терапия не применялась. У больных клещевым энцефалитом в группе II **происходило** снижение количества ДК, МДА. У больных с микст инфекцией было отмечено, что содержание ОШ, МДА в группе II после комплексного лечения нормализовалось по **сравнению** с таковыми значениями в группе I (табл. 4). Наиболее выраженное снижение содержания **МДА, ДК, ИО** при использовании **фенольса** в **комплексном** лечении наблюдалось у больных с микст инфекцией по сравнению с **иксодовым** клещевым **боррелиозом** и **клещевым** энцефалитом.

Таблица 4

Показатели **перекисного окисления липидов** в мембранах эритроцитов ( $X \pm m$ )

Диагноз	Больные до лечения	Больные после лечения	
		Группа I	Группа II
Диеновые <b>конъюгаты</b> (ДК, OD232/мг липидов)			
<b>Иксодовый</b> клещевой <b>боррелиоз</b>	3,26±0,05*	2,81±0,06*	2,25±0,03*^
Клещевой энцефалит	3,15±0,07*	2,30±0,05*^	1,70±0,08*^o
<b>Микст</b> инфекция	3,62±0,03*	2,50±0,03*^	1,70±0,02*^o
Здоровые	1,02±0,02		
Малоновый <b>диальдегид</b> (нмоль/мг липидов)			
Иксодовый клещевой боррелиоз	2,00±0,02*	2,05±0,02*	1,45±0,01^o
Клещевой энцефалит	2,62±0,03*	2,35±0,03*	1,72±0,03^o
Микст инфекция	2,05±0,02*	1,75±0,03*	1,40±0,07^o
Здоровые	1,25±0,06		
Индекс <b>окисленности</b> (отн. ед.)			
<b>Иксодовый</b> клещевой <b>боррелиоз</b>	0,93±0,01*	0,85±0,03*	0,80±0,03*
Клещевой <b>энцефалит</b>	0,89±0,04*	0,86±0,03*	0,62±0,02*^o
Микст инфекция	0,84±0,03*	0,80±0,03*	0,70±0,03^
Здоровые	0,64±0,01		

Анализ фосфолипидов мембран эритроцитов у больных с **иксодовым** клещевым боррелиозом **показал, что** изменения происходят в перераспределении фракций фосфолипидов в **течение** всего периода заболевания. В **период** клинического **выздоровления** у больных с иксодовым клещевым боррелиозом в группе II происходит нормализация **фракций** фосфолипидов, тогда как в группе I у **мужчин** остаются изменения во фракциях СМ, ФХ, ФС, **ФЭА**, у женщин сохраняются изменения со стороны фракций СМ, **ФХ, ФС, ЛФХ** (рис. 1).

При сравнительном анализе содержания фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов в группах I и II у больных с микст-инфекцией выявлено, что группа II (табл. 2) имеет более высокие значения содержания фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов по сравнению с группой I.

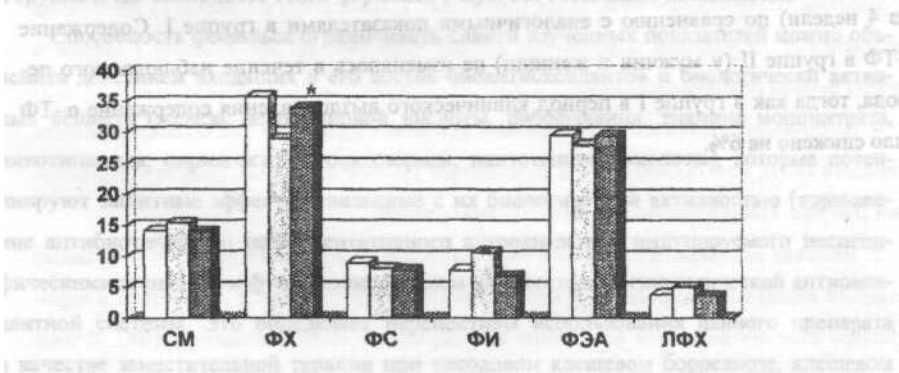
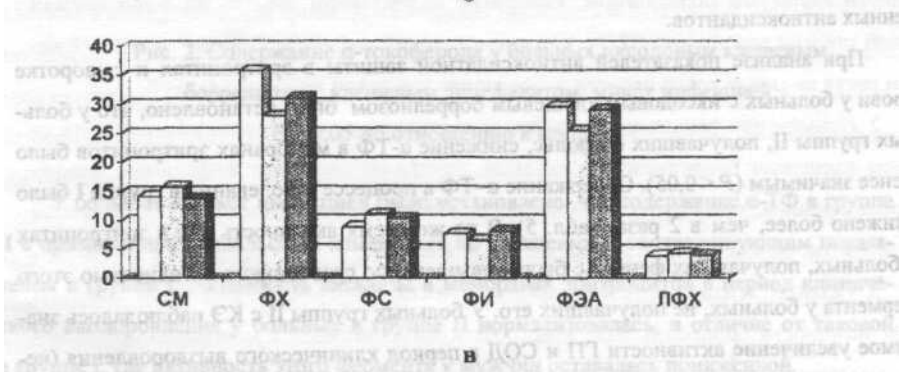


Рис. 1. Содержание фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов у больных иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст-инфекцией

□ — здоровые; ▨ — группа 1; ▩ — группа 2;

$P < 0,05$  по отношению к группе 1

При сравнительном анализе **липидного** спектра мембран эритроцитов в группах I и II у больных с микст инфекцией выявлено, что группе II (как у женщин, так и мужчин) к периоду клинического выздоровления содержание фракций **фосфолипидов** соответствовал аналогичным значениям у здоровых лиц. У мужчин и у женщин группы I к периоду клинического выздоровления содержание фракции **ФХ** было снижено по сравнению с таковыми в группе II. У мужчин группы I также оставалась повышенной фракция **ФИ**.

Одной из причин накопления эндогенных продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов может быть возникновение нарушения **антиоксидантной защиты** в системе регуляции реакций ПОЛ, основными компонентами которой являются  **$\alpha$ -ТФ**, СОД, ГП. Возникшее накопление продуктов ПОЛ может приводить к снижению фонда эндогенных **антиоксидантов**.

При анализе показателей **антиоксидантной** защиты в эритроцитах и сыворотке крови у больных с **иксодовым** клещевым боррелиозом было установлено, что у больных группы II, получавших фенюльс, снижение а-ТФ в мембранах эритроцитов было менее значимым ( $P < 0,05$ ). Содержание а-ТФ в процессе заболевания в группе I было снижено более, чем в 2 раза (табл. 5). В то же время активность ГП в эритроцитах у больных, получавших фенюльс была повышена, по сравнению с активностью этого фермента у больных, не получавших его. У больных группы II с КЭ наблюдалось значимое увеличение активности ГП и СОД в период клинического выздоровления (через 4 недели) по сравнению с аналогичными показателями в группе I. Содержание а-ТФ в группе II (у мужчин и женщин) не изменялось в течение наблюдаемого периода, тогда как в группе I в период клинического выздоровления содержание а-ТФ было снижено на 6%.

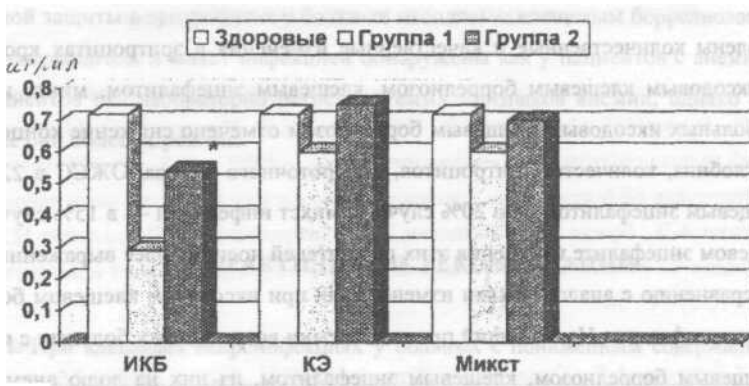


Рис. 2. Содержание  $\alpha$ -токоферола у больных **иксовым клещевым боррелиозом**, клещевым энцефалитом, микст инфекцией:  
 $P < 0,05$  по отношению к группе 1

У больных с микст инфекцией было установлено, что содержание а-ТФ в группе II с применением **фенюльса** не изменялось по сравнению с соответствующим показателем в группе I. Активность **каталазы** в мембранах эритроцитов в период клинического выздоровления у больных в группе II нормализовалась, в отличие от таковой в группе I, где активность этого фермента у мужчин оставалась пониженной.

Способность фенюльса ограничивать сдвиги изученных показателей можно объяснить действием входящих в его состав **биоантиоксидантов** и биологически активных веществ (**железа**, аскорбиновой кислоты, рибофлавина, тиамин мононитрата, **никотинамида**, **пиридоксина гидрохлорида**, **пантотеновой кислоты**), которые **потенцируют** защитные эффекты, связанные с их биологической активностью (торможение антибиотического неферментативного **аутоокисления**, индуцируемого неспецифическими агентами) и функционированием их в составе физиологической **антиоксидантной** системы. Это определяет перспективы использования данного препарата в качестве заместительной терапии при иксовом клещевом боррелиозе, клещевом энцефалите, микст инфекции.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены количественные и **качественные** изменения в эритроцитах крови у больных **иксодовым** клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией. У больных **иксодовым** клещевым боррелиозом отмечено снижение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, сывороточного железа, ОЖСС в 22% случаев, клещевым энцефалитом — в 20% случаев, микст инфекцией — в 15% случаев. При клещевом энцефалите изменения этих показателей носили более выраженный характер по сравнению с аналогичными изменениями при иксодовом клещевом боррелиозе и микст инфекции. Наибольший процент анемии встречается у больных с иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, из них на долю анемии легкой степени приходится 98 %. Усиление явлений анемии наблюдается через 2 недели после начала острого периода заболевания клещевой нейроинфекцией.

2. Применение фенюльса в качестве **корректирующего** препарата у больных иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией, осложненной анемией, приводит к нормализации концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, сывороточного железа и ОЖСС в крови.

3. Развитие клещевых нейроинфекций характеризуется значительным повышением активности процессов **перекисного** окисления липидов в мембранах эритроцитов, высоким содержанием начальных (диеновых **конъюгатов**) и конечных продуктов перекисления (оснований Шиффа) на высоте клинических проявлений болезни и в период ранней **реконвалесценции**.

4. Включение в комплексную терапию фенюльса позволяет значительно снизить активность ПОЛ, что проявляется в понижении уровня диеновых конъюгатов, оснований Шиффа, концентрации малонового **диальдегида**.

5. Высокая активность процессов перекисидации мембранных липидов у больных иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией в период разгара болезни вызывает изменения в содержании легкоокисляемых (ФС, ФЭА), трудноокисляемых **фосфолипидов** (СМ, ФХ), холестерина, **лизофосфатидилхолина**.

6. **Фенюльс** оказывает стабилизирующий эффект, направленный преимущественно на нормализацию уровня основных структурных компонентов мембран эритроцитов (СМ, ФХ, ФЭА).

7. Усиление процессов перекисного окисления **липидов** и снижение **антиоксидантной** защиты в эритроцитах у больных иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом и микст инфекцией обнаружены как у пациентов с анемией, так и у пациентов без лабораторно регистрируемых признаков анемии, однако в первом случае они более выражены.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При клещевых **нейроинфекциях** у больных с пониженным содержанием гемоглобина в периферической крови целесообразно проводить исследование интенсивности процессов перекисного окисления липидов и состояния **антиоксидантной** системы для своевременной коррекции этих изменений. Показатели активности процессов перекисного окисления липидов в эритроцитах могут служить дополнительным диагностическим критерием объективной оценки течения клещевых **нейроинфекций**.

2. В комплексном лечении больных иксодовым клещевым боррелиозом, клещевым энцефалитом, микст инфекцией, осложненных анемией, целесообразно применение фенюльса, назначенного в период улучшения общеклинических симптомов, который способствует более эффективному восстановлению клеток красной крови.

**СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ,  
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Опыт применения **фенюльса** в комплексном лечении больных **описторхозом** / Лепехин А.В., **Бужак Н.С.**, Смирнова И.В., **Чернышова Н.П.**, **Кошевец Е.С.** // Сибирский медицинский журнал **гепатологии** и гастроэнтерологии. - 1999. — № 3. - С. **155–161**.
2. Клиническая эффективность препарата **фенюльс** при инфекционных заболеваниях / Лепехин А.В., Бужак Н.С., Кошевец **Е.С.**, Смирнова И.С., **Чернышова Н.П.** // Тезисы докладов VI Всероссийского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 1999. – № 3. – С. **308**.
3. Кошевец Е.С. Динамические изменения холестерина спектра при **нейроинфекциях** / Лепехин А.В., Бужак **Н.С.**, **Чернышова Н.П.**, Бужак Н.Н. // Материалы международного симпозиума «Медицина и охрана здоровья». - М., 1999. - С. **84–85**.
4. Опыт применения фенюльса в комплексном лечении инфекционной и паразитарной патологии / Лепехин **А.В.**, Бужак **Н.С.**, Смирнова **И.В.**, **Чернышова Н.П.**, Кошевец Е.С. // Консилиум. - 1999. - № 5 (8). - С. **69–71**.
5. Кошевец Е.С. Состояние мембран эритроцитов при КЭ, Лайм **боррелиозе** и микст инфекции / **Лукашова Л.В.**, Лепехин А.В., **Чернышова Н.П.**, Жукова Н.Н. // VI Российско-итальянская конференция «**Инфекц. болезни, диагностика, лечение, профилактика**». - С.-Петербург, 2000. - С. **124–125**.
6. Клинические аспекты ассоциированной инфекции **иксодового** и клещевого **боррелиоза** и клещевого энцефалита / Лукашова Л.В., Лепехин **А.В.**, **Чернышова Н.П.**, Жукова Н.Н., Кошевец. Е.С. // VI Российско-итальянская конференция «**Инфекц. болезни, диагностика, лечение, профилактика**». - С.-Петербург, 2000. - С. 148-149.
7. Результаты лечения **авирином, вирусносительство** при КЭ / **Чернышова Н.П.**, Лукашова **Л.В.**, Лепехин А.В., Жукова Н.Н., Кошевец. Е.С. // VI Российско-итальянская конференция «**Инфекц. болезни, диагностика, лечение, профилактика**». - С.-Петербург, 2000. - С. 287.
8. Кошевец Е.С. Состояние процессов перекисного окисления **липидов** и **антиоксидантной** системы в мембранах эритроцитов у больных с микст **инфекцией**, вызванной болезнью Лайма и клещевым энцефалитом» / Серебров **В.Ю.**, Лепехин А.В., Плотников М.Б., **Маслов М.Ю.**, **Сопрун Д.Н.**, Шепелев Ю.Ю. // Материалы I **международ. конф.** «Актуальные проблемы **инфектологии** и паразитологии». - **Томск, 2001**. - С. 67.

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии ГМУ  
Заказ № 126 Тираж 100