

УДК 616-002.51+618.1.12+547.95.953

С. С. Овакимян, О. М. Амирханян, Сур. С. Овакимян,
М. Д. Сафарян

**Действие кальциевого преципитата двуспиральной РНК
на липидный метаболизм и перекисное окисление при
генитальном туберкулезе**

(Представлено чл.-кор. НАН РА Г.Г. Данагуляном 22/IX 2014)

Ключевые слова: *генитальный туберкулез, фосфолипиды, перекисное окисление липидов.*

Туберкулез – инфекционное заболевание, вызываемое микобактерией (бактерией Коха). Генитальный туберкулез, как правило, развивается вторично [1-3] в результате переноса инфекции из первичного очага поражения (чаще из легких, реже из кишечника). Несмотря на прогресс медицины, заболеваемость туберкулезом в мире увеличивается, особенно в странах с низким уровнем жизни. Поражение мочеполовых органов стоит на первом месте среди внелегочных форм туберкулеза [4, 5]. Из первичного очага при снижении иммунной резистентности организма (хронические инфекции, стрессы, недостаточное питание и др.) микобактерии попадают в половые органы [6-8]. Инфекция распространяется в основном гематогенным путем, чаще в период полового созревания. При туберкулезном поражении брюшины возбудитель попадает на маточные трубы лимфогенно или контактным путем. Прямое заражение при половых контактах с больным генитальным туберкулезом возможно только теоретически, поскольку многослойный плоский эпителий вульвы, влагалища и влагалищной порции шейки матки устойчив к микобактериям.

Характерна локализация туберкулеза половых органов. Наиболее часто поражаются маточные трубы, что объясняется особенностями кровеносной системы и кровообращения. Известно, что кровоснабжение труб осуществляется за счет маточной и яичниковой артерий, имеющих многочисленные анастомозы, в которых циркуляция крови замедляется. Эта особенность способствует оседанию микобактерий в тканях труб, в первую очередь в их слизистой оболочке.

Поражение труб наблюдается практически у всех больных туберкулезом половых органов. Туберкулез маточных труб отмечается у 100% женщин с данной инфекцией половых органов, туберкулез матки – у 25-

30%. При этом процесс в основном развивается в теле матки, поражение шейки происходит редко (0.8-6% случаев). Яичники поражаются туберкулезом реже, чем маточные трубы, они вовлекаются в процесс у 6-10% больных женщин. Туберкулез влагалища и вульвы наблюдается редко.

К числу основных симптомов относится бесплодие, чаще первичное. Среди больных, страдающих бесплодием [9-11], туберкулез половых органов выявлен у 10-20%.

Лапароскопия позволяет выявить специфические изменения органов малого таза – спаечный процесс, туберкулезные бугорки на висцеральной брюшине, покрывающей матку, трубы, казеозные очаги в сочетании с воспалительными изменениями придатков. Кроме того, при лапароскопии можно взять материал для исследований [12].

В настоящем исследовании учитывались специфика структурно-функциональных и метаболических нарушений, мембранно-связанных фосфолипидов различных категорий, ответственных за стабилизацию липид-белковых взаимоотношений и формирование активных начал иммунологического статуса организма.

С отмеченной точки зрения заслуживают внимания закономерности нарушений метаболизма фосфолипидов (ФЛ). Последние характеризуются активированием в них процесса деацилирования фосфолипид-глицеридов и, главным образом фосфатидилхолинов (ФХ), катализируемого фосфолипазой А₂. Образование при этом высоких концентраций лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), обладающих ярко выраженным мембранотоксическим и мембранолитическим действием, и является, по всей вероятности, одной из главных составляющих причинно-следственного патогенетического комплекса, ответственного за высокий темп тканевых деструктивных процессов.

Исходя из терапевтической эффективности дрожжевой низкомолекулярной двуспиральной РНК (дс-РНК) под кодовым названием "Зетапол" в упорядочении расстройств тканевого метаболизма ФЛ, установленной в клинике острого туберкулезного воспаления легких, был исследован синтезированный армянскими учеными кальциевый преципитат дс-РНК, активный в индукции интерферона в механизмах иммуностимулирующего действия [13].

Для получения кусочков ткани большого сальника, яичника, маточных труб, париетальной брюшины, а также асцитической жидкости у женщин, предположительно больных брюшным типом туберкулеза, мы использовали лапароскопический метод.

Гистологическое исследование тканей, полученных при биопсии, выявляет признаки туберкулезного поражения. Контрольной является проба, где туберкулез не обнаружен.

Экстракцию ФЛ из объектов исследования производили по Фолчу [14] в модификации Карагезяна [15], состоящей в предварительном обезвоживании испытуемого материала с помощью абсолютного ацетона. Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля в системе раствори-

телей, состоящей из хлороформа, метанола и концентрированного аммиака в объемных соотношениях 65:35:5.

Фракции ФЛ идентифицировали с применением их стандартов ("Sigma", США). Количество липидного фосфора, минерализованного в среде концентрированной серной и азотной кислот, определяли спектрофотометрически по методу Фиске и Субароу, в мкг липидного фосфора/г сухого остатка исследуемого материала или в мкг липидного фосфора/мг белка по каждому индивидуальному представителю ФЛ. Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики по критерию Стьюдента – Фишера.

Нейтральная категория ФЛ (НФЛ) представлена сфингомиелинами (СФМ), фосфатидилхолинами (ФХ), фосфатидилэтаноламинами (ФЭ), кислая же – фосфатидилсеринами (ФС), монофосфатидилинозитидми (МФИ), фосфатидными кислотами (ФК), кардиолипинами (КЛ).

Определенное количество полученных лапароскопическим методом тканей инкубировали в 0.01М растворе трис-НСl буфера при 37⁰С, рН 7.4. Затем ткани осаждали центрифугированием, высушивали ацетоном и использовали их для определения количества ФЛ.

Расчеты велись в мкг липидного фосфора в 1 г ацетонового порошка. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Таблица 1

Изменение содержания фракций фосфолипидов у больных брюшным типом туберкулеза до и после введения дс-РНК

	Контр.	% разн. от суммы	Больные	% разн. от суммы	% разницы от контр.	Введение дс-РНК	% разн. от суммы	% разн. от контр.
Маточные трубы								
ЛФХ	-	-	85.6±0.8	5.8	-	42.0±0.5	2.1	-
МФИ	109.3±0.1	5.33	152.0±1.3	10.4	+39.0***	101.5±0.8	5.2	-7.1*
СФМ	338.4±0.3	16.5	220.5±0.6	15.1	-34.8***	316.0±0.2	16.2	-6.6*
ФХ	985.5±0.6	48.0	450.2±0.5	30.8	-54.3***	928.0±0.6	47.5	-5.8*
ФС	162.4±0.2	7.9	192.4±1.5	13.1	+18.5**	150.4±0.2	7.7	-7.4*
ФЭ	388.6±0.5	19.0	262.5±1.1	17.9	-33.4***	352.0±0.1	18.0	-9.4*
ФК	21.2±0.8	1.03	32.0±0.8	2.2	+51.0***	23.8±0.3	1.2	+12.3*
КЛ	45.8±0.9	2.2	68.0±0.9	4.6	+48.5***	40.4±0.7	2.1	-11.8*
Сумм НФЛ	1712.5±1.5		1018.8±1.2			1638±1.1		
Сумма КФЛ	338.7±1.2		444.4±1.1			316.1±1.5		
Сумма всех ФЛ	2051.2±1.0		1463.2±0.8			1954.1±1.1		
К С. НФЛ/С.КФЛ	5.06		2.3			5.2		

Яичники								
ЛФХ	-	-	85.0±0.8	28.8	-	30.9±0.1*	12.4	-
МФИ	25.2±0.3	11.6	45.4±0.4	15.4	+80.1***	28.8±0.6*	11.5	+14.3**
СФМ	20.8±0.2	9.6	12.2±1.2	4.1	-41.3***	21.0±0.5*	8.4	+1.0*
ФХ	72.5±0.8	33.4	38.0±0.5	12.8	-47.6***	70.4±0.8*	28.2	-2.9*
ФЭ	43.0±0.6	19.8	28.4±0.6	9.6	-33.9***	41.2±1.0*	16.5	-4.2*
ФС	28.0±0.1	13.0	33.2±0.7	11.2	+18.6**	29.3±0.6*	11.7	+4.6*
ФК	10.8±0.3	5.0	28.6±0.8	9.7	+64.8***	12.4±0.7*	5.0	+14.8**
КЛ	16.4±0.5	7.6	24.3±0.2	8.2	+48.2***	15.8±0.2*	6.3	-3.6*
Сумма НФЛ	136.3±1.6		163.6±1.3			163.5±1.7		
Сумма КФЛ	80.4±1.2		131.5±1.1			86.3±0.9		
Сумма всех ФЛ	216.7±1.0		295.1±1.8			249.8±1.3		
К С.НФЛ/С.КФЛ	1.7		1.24			1.9		
Большой сальник								
ЛФХ	33.8±0.2	2.5	90.8±0.3	8.0	+168.6***	40.2±0.1*	3.1	+19.0**
МФИ	52.3±0.5	3.9	69.0±0.1	6.1	+32.0***	48.8±0.1*	3.8	-6.7*
СФМ	202.4±0.6	15.2	138.2±0.6	12.2	-31.7***	193.8±0.5*	15.0	-4.2*
ФХ	635.0±0.1	47.6	382.0±0.2	33.7	-39.8***	600.5±0.4*	46.5	-5.5*
ФЭ	228.0±0.3	17.1	190.2±0.4	16.8	-16.6**	219.8±0.9*	17.0	-3.6*
ФС	126.7±0.6	9.5	155.0±0.5	13.7	+22.3***	132.0±0.7*	10.2	+4.2*
ФК	20.8±0.4	1.5	50.4±0.3	4.4	+42.3***	23.8±0.2*	18	+14.4**
КЛ	35.2±1.0	2.6	58.0±0.4	51	+64.8***	32.8±0.4*	2.5	-6.8*
Сумма НФЛ	1099.2±1.2		801.2±1.5			1054.3±1.3		
Сумма КФЛ	235.0±1.5		332.4±0.8			237.4±1.4		
Сумма всех ФЛ	1334,2±1.1		1133.6±0.9			1291.7±1.1		
КС.НФЛ/С.КФЛ	4.7		2.4			4.4		

Примечание: n=8; *p>0.5; **p<0.25; ***p<0.001.

Изучение динамики изменения индивидуальных представителей НФЛ и КФЛ (табл. 1) выявило особенности их расхождений от исходных величин. Примечательным при этом оказалось увеличение содержания ЛФХ, обладающих в высоких концентрациях мембранотоксическим и мембранолитическим действием, проявляющимся в стадии развития деградиционных процессов, характерных для туберкулеза. Следует отметить, что в тканях маточных труб и яичниках ЛФХ в норме нами не были обнаружены. Количественные изменения НФЛ и КФЛ, коррелирование уровня ЛФХ под действием Ca^{2+} -дс-РНК в пределах верхних границ нормы расцениваются как адекватная для данной патологии ответная реакция организма с подключением их как адаптогенов и иммунитетстимулирующих факторов. Примечательно при этом возрастание "удельного веса" КФЛ в сумме всех ФЛ как важнейших компонентов респираторной системы митохондрий, значение которых в репарации очагов поражения при туберкулезе заслуживает особого внимания. Таким образом, полученный нами экспериментальный материал позволяет расценить Ca^{2+} -дс-РНК как высокоэффективное средство в упорядочении структурно-функциональных расстройств при туберкулезной патологии. Согласно имеющейся научной информации [16,17] формирование патогенетических механизмов

при различных болезненных состояниях организма во многом обусловлено качественно-количественными расстройствами эндогенного альфа-токоферола (α -Т) как основного фактора антирадикальной защиты клетки. Это в равной степени касается и осложнений, проявляющихся в клинике туберкулеза. Нарушение интенсивности течения свободно-радикального окисления (СРО) липидов в ферментативной (НАДФ-зависимой) и неферментативной (аскорбатзависимой) системах перекисеобразования [18] проводилось по выходу конечного продукта – малонового диальдегида (МДА) из расчета нМ/г белка.

Таблица 2

**Динамика количественных изменений МДА у больных
брюшным типом туберкулеза под действием Са²⁺-дс-РНК**

Показатели	Контроль	Больные	Са ²⁺ -дс-РНК
Маточные трубы			
НАДФ-Н зависимое Переоокисление	2.3±0.24	3.0±0.32	2.4±0.26
Аскорбатзависимое Переоокисление	2.6±0.28	3.4±0.40	2.7±0.30
Яичники			
НАДФ-Н зависимое переоокисление	2.1±0.18	2.5±0.28	2.2±0.20
Аскорбатзависимое переоокисление	2.3±0.22	2.8±0.26	2.1±0.18
Большой сальник			
НАДФ-Н зависимое переоокисление	1.9±0.14	2.3±0.22	2.0±0.16
Аскорбатзависимое переоокисление	2.0±0.16	2.6±0.28	2.1±0.20

Примечание: n=8.

Исходя из результатов наших исследований более выраженное активирование срыва интенсивности течения СРО регистрируется в неферментативной аскорбатзависимой системе переоокисления у больных туберкулезом. Применение Са²⁺-дс-РНК сопровождается отчетливо проявляющейся тенденцией к упорядочению характерной для нормы Интенсивности течения перекисеобразовательного процесса. Таким образом, можно сделать заключение о значительном превышении содержания МДА у больных брюшным типом туберкулеза. Последнее расценивается как интенсивно совершающийся процесс вовлечения освобождающихся при деацилировании фосфолипидов под воздействием фосфолипазы А₂ жирных кислот полиенового ряда в реакции перекисеобразования.

Научно-технологический центр органической
и фармацевтической химии НАН РА
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна

**С. С. Овакимян, О. М. Амирханян, Сур. С. Овакимян,
М. Д. Сафарян**

Действие кальциевого преципитата двуспиральной РНК на липидный метаболизм и перекисное окисление при генитальном туберкулезе

Выявлено нарушение постоянства фосфолипид-фосфолипидных соотношений с увеличением содержания лизофосфатидилхолинов при лекарственно устойчивом туберкулезе (ЛУТ), что свидетельствует о роли указанных соединений в патобиохимических механизмах этиопатогенеза ЛУТ. Особого внимания заслуживает регуляторная роль Ca^{2+} -дс-РНК в отношении метаболизма фосфолипидов в активности фосфолипазы A_2 , катализирующей процесс деацилирования фосфатидилхолинов, что сопровождается образованием лизофосфатидилхолинов и выходом неэстерифицированных жирных кислот. Активирование процесса свободно-радикального окисления регистрируется в неферментативной аскорбатзависимой системе перекисления. Применение Ca^{2+} -дс-РНК сопровождается тенденцией к упорядочению характерной для нормы интенсивности течения перекисеобразовательного процесса.

**Ս. Ս. Հովակիմյան, Ն. Ս. Ամիրխանյան, Սուր. Ս. Հովակիմյան,
Մ. Դ. Սաֆարյան**

Երկպարույր ՌՆԹ-ի պրեցիպիտատի ազդեցությունը լիպիդների փոխանակության և գերօքսիդացման վրա կանանց սեռական օրգանների տուբերկուլյոզի ժամանակ

Ստացված տվյալների համաձայն՝ դեղակայուն տուբերկուլյոզը (ԴԿՏ) բնութագրվում է ֆոսֆոլիպիդ-ֆոսֆոլիպիդ (ՖԼ-ՖԼ) համամասնության ֆիզիոլոգիապես հաստատուն կայունության խախտմամբ և լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների (ԼՖԽ) պարունակության զգալի ավելացմամբ, ինչը վկայում է ԴԿՏ-ի էթիոպաթոգենեզի պաթոկենսաբանական մեխանիզմներում այդ միացությունների դերի մասին: Հաստուկ ուշադրության է արժանի Ca^{2+} -դս-ՐՈՒ-ի կարգավորիչ դերը ՖԼ-ի փոխանակության որոշակի փոփոխում, մասնավորապես ֆոսֆոլիպազա A_2 -ի վրա, որն իրականացնում է ֆոսֆատիդիլխոլինների դեացիլացման գործընթացը, ինչն ուղեկցվում է ԼՖԽ-ի և ոչ էպթերիֆիկացված ճարպաթթուների պարունակության զգալի ավելացմամբ: Լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման ռեակցիաների ակտիվացումը գրանցվում է գերօքսիդացման ասկորբատկախ ոչ ֆերմենտային համակարգերում: Ca^{2+} -դս-ՐՈՒ-ի կիրառումը նպաստում է նորմալ բնորոշ գերօքսիդացման գործընթացների ինտենսիվության կարգավորմանը:

**S. S. Hovakimyan, H. M. Amirkhanyan, Sur. S. Hovakimyan,
M. D. Safarian**

Calcium Precipitate of Double-Stranded RNA Action on Lipid Metabolism and Lipid Peroxidation at Genital Tuberculosis

The drug-resistant tuberculosis (DRT) is characterized by impaired constancy FL-FL ratios with increasing lysophosphatidylcholines(LPCh), indicating about the role of these compounds in pathobiochemical mechanisms of etiopathogenesis of DRT. Particularly noteworthy regulatory role of Ca^{2+} -ds-RNA in relation of metabolism of FL provides the activity of phospholipase A_2 , which catalyzes the process of deacylation of phosphatidilcholins, which is accompanied by the formation of (LPCh) and access of non-esterified fatty acids. Activating the free radical oxidation is registered in non-enzymatic peroxidation system. The use of Ca^{2+} -ds-RNA is

accompanied by a tendency to ordering of characteristic for norm intensity of a course of peroxide formation process.

Литература

1. *Корнилова З.Х., Макаров О.В., Демихова О.В., Каюкова С.И.* - Туберкулез и болезни легких. 2011. N 3. С.49-51.
2. *Макаров О.В., Стаханов В.А., Каюкова С.И.* – Рос. мед. журн. 2009. N 1. С. 42-45.
3. *Беллендир Э. Н., Сердобинцев М. С., Ягафарова Р. К., Баринов В. С., Гарбуз А. Е., Мушкин А.Ю., Коваленко К.Н., Наконечный Г.Д., Олейник В.В., Гусева В. Н.* - Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2005. N 5. С. 53-57
4. *Кошечкин В. А., Иванова З. А.* Туберкулез. Уч. пособие. М. Изд. группа ГЭОТАР. 2007. С. 304.
5. *Колачевская Е. Н.* Туберкулез женских половых органов. М. Медицина. 1996. С. 237.
6. *Аветисова Л. Р.* (1990) - Здоровье женщины. 2011. N 6. С. 111
7. *Аветисова Л.Р.* Альгоменорея у девушек пубертатного возраста. Канд. дис. М. 1990. 27 с.
8. *Шмаков П. Ю.* Медико-социальная характеристика контингента часто болеющих детей с различным иммунным статусом и пути их оздоровления. Рязань. 2002. стр. 22.
9. *Крайненко Е. В.* Современные аспекты туберкулеза женских репродуктивных органов. Канд. дис. М. 172 с.
10. *Соцкая О.Л., Сафарян М.Д., Соцкий П.О.* – Туберкулез и болезни легких. 2012. N 9.С. 25-30.
11. *Яковлева А.А.* - Сибирское медицинское обозрение. 2011. N 6. С. 90-94.
12. *Попова С. С., Семеновский А. В., Прохорович Н. А., Кочорова В. С., Баринов М. Н.* - Проблемы туберкулеза. 1999. N 3. С. 36-39.
13. *Агабалян А.С. Агабалян А.М., Карагезян К.Г.* - ДАН АрмССР.1998. Т. 98 N. 2. С. 166-169.
14. *Folch J., Less M., Sloan-Stanley G.H.* - J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497-509.
15. *Карагезян М. К.* Изучение молекулярных механизмов. Канд. дис. 1997. 120 с.
16. *Казарян А.В., Овакимян С.С., Карагезян К.Г.* - ДНАН РА. 2006. Т. 106. N 1. С. 72-79
17. *Мартиросян А.А., Секоян Э.С.* - Аллергология и иммунология. Афины. 2005. Т. 6. N 3. С. 368.
18. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в живых системах. Ин-т науки и техники ВИНТИ. 1991. Т. 29. С. 126-130.