

БИОХИМИЯ

УДК 616.381-002.5;665.3

**С. С. Овакимян¹, М. Д. Сафарян², Сур. С. Овакимян¹,
А. Г. Мелконян¹**

**Метаболические нарушения фракционного состава
фосфолипидов у больных брюшным типом туберкулеза**

(Представлено чл.-кор. НАН РА В.О. Топузяном 14/X 2016)

Ключевые слова: *брюшной тип туберкулеза, фосфолипиды.*

Согласно сообщениям Всемирной организации здравоохранения туберкулез остается проблемой первостепенной важности, в связи с чем необходимость разработки принципиально новых подходов по изысканию совершенных и результативных средств антитуберкулезного действия является одной из важнейших задач здравоохранения. Особый интерес представляет генитальный туберкулез. Это инфекция женских половых органов, вызываемая микобактериями туберкулеза, следствием чего является бесплодие. Диагностика генитального туберкулеза основывается преимущественно на данных лапароскопии [1]. Генитальный туберкулез чаще всего является вторичным поражением, обусловленным заносом инфекции из первичных очагов поражения [2, 3].

Туберкулезное поражение мочеполовой системы занимает первое место по частоте встречаемости среди внелегочного туберкулеза и составляет среди этих форм 6.5%. На первый план в структуре туберкулеза гениталий выходит поражение фаллопиевых труб (у 90-100% пациенток), за ним следует поражение эндометрия (у 25-30% женщин). В редких случаях диагностируются такие формы генитального поражения, как туберкулез яичников, шейки матки, влагалища и вульвы. Часто ведущим и даже единственным симптомом генитального туберкулеза является бесплодие, обусловленное поражением эндометрия и маточных труб [4, 5]. Среди причин роста туберкулеза следует отметить нарастание лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза. Это отчетливо проявляющиеся расстройства генетического аппарата, которые ведут к многочисленным функциональным изменениям и, в частности, приобретенной устойчивости в отношении различных лекарственных средств антипалочкового действия.

Проблема выявления патобиохимических механизмов при различных патологиях остается одной из неразрешенных задач современной медицины.

Филогенетически стабилизированный в норме качественный состав и количественное содержание фосфолипидов (Фл) биологических мембран служат основой в регуляции и поддержании Фл-Фл соотношений в них как необходимого условия обеспечения норм клеточной активности в филогенетически и патологически метаболизирующем организме [6].

Отдельного внимания заслуживают результаты исследований особенностей стимулирующего действия модифицированного учеными Армении кальциевого преципитата дрожжевой низкомолекулярной двуспиральной РНК (Ca^{2+} -дс-РНК) на иммунологический статус как физиологически метаболизирующего организма, так и прежде всего при его различных экстремальных и болезненных состояниях [7-10]. Интересны также исследования по выявлению действия Ca^{2+} -дс-РНК на активность фосфолипазы А₂, катализирующей реакцию деацилирования фосфатидилхолина (ФХ) с образованием лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и выбросом неэстерифицированных жирных кислот полиенового ряда [11, 14, 15].

Интенсивное вовлечение последних в реакции свободнорадикального окисления происходит с образованием продуктов их переокисления, обладающих в высоких концентрациях ярко выраженным мембранотоксическим, мембранолитическим действием. Имеются сведения относительно активирующего влияния ЛФХ на иммунологические особенности организма [12, 13].

Исходя из вышеизложенного мы решили изучить действие «Зетапола» на содержание различных фракций Фл в мембранах эритроцитов (МЭ) и мембранах лимфоцитов (МЛ) крови больных брюшным типом туберкулеза в париетальной брюшине и асцитической жидкости, взятых лапароскопическим методом.

Включение МЭ и МЛ в круг данного исследования было продиктовано укоренившимся в настоящее время в научной литературе мнением об универсальности МЭ, отражающих в целом структурно-функциональные и метаболические особенности всех мембранных образований тканевых систем независимо от их дифференцированности. МЭ и МЛ отводится специальная роль в инициации, формировании и стабилизации иммунологических процессов [16].

Были проведены исследования особенностей качественно-количественных сдвигов Фл как основных структурно-функциональных компонентов мембран в норме и прежде всего при экстремальных состояниях организма, в том числе его туберкулезном поражении.

Материалы и методы. Лапароскопическим методом у 14 больных брюшным типом туберкулеза получали пробы париетальной брюшины и асцитической жидкости. Гистологическим методом подтвердилось туберкулезное поражение у 8 больных. Взятые пробы у 6 больных, у которых туберкулез не обнаружен, считались контрольными.

МЭ получали из крови, взятой у больных по Лимберу и др. [17]. Лимфоциты отделяли центрифугированием в градиенте плотности фикол-400-верографин 12 и инкубировали в 10⁷мл в 0.01М растворе трис-НСl при 37⁰С, рН 7.4 в смеси со средой 199 (в соотношении 1:4) в присутствии митогена конканавалина А (6 мг/мл). МЛ, освобождавшиеся после осмоти-

ческого шока, осаждали повторным центрифугированием с использованием их на предмет определения Фл [18].

Экстракцию Фл проводили по Фолчу и др. [19]. Фракционирование Фл осуществляли методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля в системе растворителей, состоящей из хлороформа, метанола и аммиака в объемных соотношениях 65:35:5 [20].

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 Суббароу в мкг липидного фосфора на 1 г сухого остатка каждого Фл. Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики по критерию Стьюдента – Фишера.

Результаты и обсуждения. Согласно результатам проведенных исследований, приведенным в табл. 1 и 2, при туберкулезном воспалении в МЭ и МЛ наблюдаются нарушения филогенетически стабилизированного постоянства в картине Фл-Фл соотношений в исследуемых препаратах. Среди отмеченных отклонений особого внимания заслуживает возрастание содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в МЭ.

Наиболее реальным объяснением наряду с известным путем деацилирования Фх не исключено также подключение и обратного пути – процесса реацилирования глицерил-фосфатидилхолина, при активном участии различных жирных кислот, приводящее к ресинтезу ЛФХ, как необходимое условие стимуляции определенных этапов компенсаторно-приспособительных реакций, чрезвычайно важных в реализации иммуномодулирующей активности организма в условиях патологии [20, 21]. Установленное нами количественное возрастание кислых Фл (фосфатидилсерина (ФС), фосфатидных кислот (ФК), кардиолипинов (КЛ)), является свидетельством мобилизованности компенсаторных механизмов, ответственных за максимальное поддержание резко подавленного энергетического потенциала.

Следующим этапом исследований было определение Фл состава в париетальной брюшине и асцитической жидкости, полученных лапароскопическим методом у больных брюшным типом туберкулеза. Результаты исследований показали, что в асцитической жидкости ЛФХ в контрольных пробах не обнаружены, а в париетальной брюшине ЛФХ составляют всего 4% от суммы всех Фл. У больных брюшным типом туберкулеза количество всех фракций Фл увеличивается, особенно заметно увеличиваются ЛФХ, обладающие мембранотоксическим и мембранолитическим свойством. Это явление можно объяснить участием ЛФХ в реализации определенных компенсаторно-приспособительных реакций организма, чрезвычайно необходимых в условиях патологии. Эти данные адекватны решениям отчетного собрания Нью-Йоркской академии наук 2002 г., посвященным анализу роли лизофосфолипидов, в том числе и ЛФХ, в биологии и патологической физиологии. При введении Ca^{2+} -дс-РНК мы наблюдали уменьшение количества кислых Фл, особенно ЛФХ.

Таблица 1

Динамика количественных изменений различных фракций Фл (мкг Р/1 г сухого порошка) в мембранах эритроцитов крови у больных брюшным типом туберкулеза до и после введения дс-РНК

Показатели Фл	Контрольный вариант		После введения дс-РНК		Изменения (в %) по сравнению с контролем
	Содержание Фл	% от суммы	Содержание Фл	% от суммы	
ЛФХ	6.5±0.04	5.3	12.2±0.03	10.6	+87.7
МФИ	6.2±0.3	5.0	7.4±0.02	6.45	+19.3
Сфм	20.1±0.7	16.3	18.4±0.04	16.0	-8.5
ФХ	69.2±0.08	56.3	41.1±0.01	36.0	-40.6
ФС	7.7±0.04	6.3	16.0±0.03	14.0	+100*
ФЭ	3.2±0.01	2.6	3.9±0.02	3.4	+22
ФК	4.1±0.02	3.3	5.4±0.03	4.7	+32
КФл	6.0±0.02	4.9	10.3±0.04	9	+72
Сумма Фл	123.0		114.7		
Сумма НФл	99.0		75.6		
Сумма КФл	24.0		39.1		

Примечание. Сокращения в табл. 1-4: ЛФХ – лизофосфатидилхолины, МФИ – монофосфоинозитиды, ФС – фосфатидилсерины, СФМ – сфингомиелины, ФХ – фосфатидилхолины, ФЭ – фосфатидилэтаноламины, ФК – фосфатидные кислоты, НФл – нейтральные фосфолипиды, КФл – кислые фосфолипиды. * Процентная разница более ста.

Таблица 2

Динамика количественных изменений различных фракций Фл (мкг Р/1 г сухого порошка) в мембранах лимфоцитов крови у больных брюшным типом туберкулеза до и после введения дс-РНК

Показатели Фл	Контрольный вариант		После введения дс-РНК		Изменения (в %) по сравнению с контролем
	Содержание Фл	% от суммы	Содержание Фл	% от суммы	
ЛФХ	11.6±0.6	4.98	34.2±0.8	13.10	+100*
МФИ	22.4±0.8	9.62	28.0±0.6	10.80	+25
Сфм	20.3±0.7	8.72	19.0±0.7	7.30	-6.4
ФХ	78.2±0.4	33.60	62.0±0.8	24.00	-20.7
ФС	41.3±0.5	17.74	49.0±0.3	18.90	+18.6
ФЭ	39.0±0.3	16.76	42.0±0.4	16.20	+7.7
ФК	8.1±0.3	3.48	10.0±0.2	4.00	+23.46
КЛ	11.8±0.2	5.10	15.0±0.2	6.00	+27
Сумма Фл	232.7		259.2		
Сумма НФл	149.1		157.2		
Сумма КФл	83.6		102		

Таблица 3

**Корректирующее действие дс-РНК на содержание различных фракций Фл
(мкг Р/1 г сухого порошка) в париетальной брюшине у больных брюшным
типом туберкулеза**

Показатель Фл	Контроль		Больные		Измене- ния (в %) по сравне- нию с контро- лем	Введение дс-РНК		Измене- ния (в %) по сравне- нию с контро- лем
	содер- жание Фл	% от суммы Фл	содер- жание Фл	% от суммы		содер- жание Фл	% от суммы	
ЛФХ	25.0± 0.3	4.0	70.0± 0.4	12.5	+100*	35.0± 0.1	5.8	+40
МФИ	42.0± 0.2	6.8	58.0± 0.3	10.3	+38	31.0± 0.2	5	-26
Сфм	158.0± 0.4	25.5	120.0± 0.4	21.4	-24	149.0± 0.3	24.5	-5.7
ФХ	202.0± 0.4	32.7	115.0± 0.3	20.5	-43	212.0± 0.3	35	+6
ФС	98.5± 0.3	16	110.0± 0.4	20	+11.68	90.0± 0.1	15	-8.6
ФЭ	62.3± 0.2	10	40.0± 0.2	7	-36	59.0± 0.2	9.7	-5.3
ФК	18.2± 0.2	3	26.0± 0.1	4.6	+43	19.0± 0.1	3.0	+4.4
КЛ	11.1± 0.1	2	21.0± 0.1	3.7	+89	12.3± 0.1	2	+10.8
Сум. Фл	617.1		560.0		-9.25	607.3		-1.64
Сум. НФл	447.3		345.0		-22.87	455.0		+1.7
Сум. КФл	169.8		215.0		+26.6	152.3		-10.3

Корректирование уровня ЛФХ под действием Ca^{2+} -дс-РНК расценивается как адекватная ответная реакция организма, с подключением их как имунитетстимулирующих факторов. Согласно результатам наших исследований становится очевидным корректирующее действие Ca^{2+} -дс-РНК на расстроенные звенья метаболизма Фл. Последнее выражается в восстановлении филогенетически стабилизированного постоянства качественно-количественного состава Фл различных категорий и Фл-Фл соотношений в биологических системах организма.

Таблица 4

**Корректирующее действие дс-РНК на содержание различных фракций
фосфолипидов (мкг/гр сухого порошка) в асцитической жидкости у больных
брюшным типом туберкулеза**

Пок. Фл	Контроль		Больные		Изменения (в %-ах) По сравн. с контр.	Введение дс-РНК		Измени я % По сравн. с контр.
	сод. Фл	% от суммы Фл	сод. Фл	% от суммы		сод. Фл	% от суммы	
ЛФ Х	-		65.0± 0.1	15.2	-	20.0± 0.2	4.6	-
МФ И	24.0± 0.3	5.6	41.3± 0.1	9.7	+72	35.0± 0.1	8.1	+46
Сфм	98.0± 0.2	23	72.0± 0.2	17	-26	89.0± 0.2	20.7	-9
ФХ	150.0± 0.4	35.2	75.0± 0.3	17.6	-50	140.0± 0.3	32.5	-7
ФС	72.0± 0.1	17	90.0± 0.3	21.1	+25	70.0± 0.1	16.3	-3
ФЭ	52.0± 0.2	12.2	36.0± 0.4	8.4	-30.7	49.0± 0.2	11.4	-5.7
ФК	16.1± 0.1	3.8	25.0± 0.1	5.8	+55.2	14.8± 0.1	3.4	-8
КЛ	13.2± 0.2	3.2	22.0± 0.1	5.2	+67	12.8± 0.2	3	-3
Сум ма Фл	425.3		426.3		-	430.6		
Сум ма НФл	300		248		-18.3	298		-
Сум ма КФл	125.3		178.3		+42.2	132.6		+5.8

¹Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

²Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци
e-mail: itsallright@list.ru

**С. С. Овакимян, М. Д. Сафарян, Сур. С. Овакимян,
А. Г. Мелконян**

**Метаболические нарушения фракционного состава фосфолипидов
у больных брюшным типом туберкулеза**

Результаты проведенных исследований привели к заключению о глубоких метаболических изменениях различных фракций фосфолипидов в мембранах лимфоцитов и эритроцитов в крови, в асцитической жидкости и париетальной брюшине у женщин, больных брюшным типом туберкулеза. Показана регуляторная роль Ca^{2+} -дс-РНК, выражающаяся в межфракционных изменениях фосфолипидов в изученных биологических системах организма.

**Ս. Ս. Հովակիմյան, Մ. Դ. Սաֆարյան, Սուր. Ս. Հովակիմյան,
Ա. Գ. Մելքոնյան**

**Ֆոսֆոլիպիդների ֆրակցիոն կազմի մետաբոլիկ խախտումները
որովայնային տիպի տուբերկուլյոզով հիվանդների մոտ**

Կատարված հետազոտությունները մեզ հանգեցրին այն եզրակացության, որ տեղի են ունենում խորը մետաբոլիկ փոփոխություններ, արյան լիմֆոցիտների և էրիթրոցիտների թաղանթների, ասցիտիկ հեղուկի և պարիետալ որովայնի ֆոսֆոլիպիդների տարբեր ֆրակցիաներում, որովայնային տիպի տուբերկուլյոզով հիվանդ կանանց մոտ: Ցույց է տրված երկպարույր Ω_3 -ի ցածրամոլեկուլային կալցիումական պրեցիպիտատի կարգավորիչ դերը, որն արտահայտվում է ֆոսֆոլիպիդների միջֆրակցիոն փոփոխություններում՝ հետազոտված կենսաբանական համակարգերում:

**S. S. Hovakimyan, M. D. Safaryan, Sur. S. Hovakimyan,
A. G. Melkonyan**

**Metabolic Disorders of the Fractional Composition of Phospholipids
in Patients with Abdominal Type of Tuberculosis**

The results of these studies have led us to the conclusion that deep metabolic changes of various phospholipids fractions in the membranes of red blood cells and lymphocytes in the blood, ascites and the parietal peritoneum in women with abdominal type of tuberculosis. It is shown that the regulatory role of Ca^{2+} -ds-RNA is expressed in the factional phospholipids changes in the studied biological systems of the organism.

Литература

1. *Попова С. С., Семеновский А. В.* – Проблемы туберкулеза. 1999. № 3. С. 36-39.
2. *Соцкая О. Л., Сафарян М. Д., Соцкий П. О.* – Туберкулез и болезни легких. 2012. № 9. С. 25-30.
3. *Крайненко Е. В.* Современные аспекты туберкулеза женских репродуктивных органов. Автореф. канд. дис. М. 2002.
4. *Яковлева А. А.* – Сибирское мед. обозрение. 2011. № 6. С. 90-94.
5. *Макаров О. В., Стаханов В. А., Каюкова С. И.* – Российский мед. журнал. 2009. № 1. С. 42-45.
6. *Крепс Е. М.* В кн.: Липиды клеточных мембран. Л. Наука. 1981. С. 330.
7. *Агабалян А. С., Аветисян И. В., Карагезян К. Г.* – Нейрохимия. 1998. Т. 15. № 2. С. 207-208.
8. *Агабалян А. С., Агавелян А. М., Карагезян К. Г.* – ДНАН РА. 1997. Т. 98, № 2. стр. 166-169.
9. *Агабалян А. С., Агавелян А. М., Карагезян К. Г.* В кн.: Сб. науч. трудов, посвященный 70-летию Ер. ГМУ. 2000. С. 59-61.
10. *Агабалян А. С., Назаров Л. У., Базиян А. Р. и др.* – ДНАН РА. 1993. Т. 94. № 3. С. 173-177.
11. *Goetzl E. J., Zynch K. R.* – Annals of the New York Academy of Sciences. 2002. V. 905. P. 357. 2002.

13. Дятловитская Э. В. – Биохимия. 1995. Т. 60. № 6. С. 843-850.
14. Бергельсон Л. Д., Дятловитская Э. В. – Итоги науки и техники. Серия “Иммунология”. М. ВИНТИ. 1988. Т. 22. С. 6-21.
15. Touqui L., Wu J. et al. – Acta pharmacol. Six. 2003. V.24. № 12. P. 1292-1296.
16. Hirabayashi T., Shimizu T. – Biochemica et Biophysica Acta. 2000. V. 1488. P. 124-138.
17. Дятловитская Э. В., Андреасян Г. О., Малых Я. Н., Фылов С. Н. – Биохимия. 1977. Т.62. С. 651-656.
18. Limber G. K., Davis R. F., Bakerman S. – Acrilamide gel electrophoresis» studies of human erytcote membrane Blood. 1970. V. 36. № 1. P. 111-118.
19. Ковальчук Л. В. и др. Иммунология: практикум. Учеб. пособие. 2010. 176 с.
20. Folch. J., Zess M., Sloan-Stenley G.H. – J. Biol. chem. 1957. V. 226. P. 497-509.
21. Карагезян К. Г. В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван. Айастан. 1972. С.267.
22. Дятловитская Э. В. – Биохимия. 1991. Т. 56. № 4. С. 560-564.