

БИОХИМИЯ

УДК 616.24-002.5 + 547.953 + 661.732.9 + 54-39 + 547.461.3

Академик К.Г. Карагезян, М.Д. Сафарян, С.С. Овакимян, О.М. Амирханян

**Особенности корригирующего действия сверхнизких концентраций  
кальциевого преципитата двуспиральной РНК на нарушенные звенья  
липидного метаболизма у морских свинок с туберкулезным  
воспалением легких**

(Представлено 2/Х 2009)

**Ключевые слова:** *туберкулез легких, фосфолипиды, жирные кислоты, свободнорадикальное окисление, малоновый диальдегид*

Согласно сообщениям научной литературы [1] цельная кровь и ткани млекопитающих отличаются высоким уровнем неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), преимущественно полиенового ряда, среди которых арахидоновой кислоте как физиологически активному соединению придается особое значение. Отличаясь исключительно высокой степенью метаболической активности, НЭЖК в подавляющем большинстве случаев определяются в составе важнейших мембраносвязанных фосфолипидов (ФЛ), главным образом кислой природы (КФЛ) [2-6]. Подвергаясь интенсивно протекающим реакциям деацилирования под действием чрезмерно активированной фосфолипазы  $A_2$ , что особенно отчетливо проявляется при различных болезненных состояниях организма. ФЛ-глицериды выступают в роли субстратов для образования высоких концентраций лизо-ФЛ, преимущественно лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), ненасыщенных жирных кислот (ЖК) и продуктов их свободнорадикального окисления (СРО), в частности малонового диальдегида (МДА). Имеющиеся сведения являются прямым указанием на существенное изменение при различных болезненных состояниях, в том числе и туберкулезном воспалении легких (ТБВЛ), жирнокислотного состава и ФЛ легочной ткани [7], что послужило основанием для проведения специальных исследований с целью выяснения особенностей качественно-количественных

изменений НЭЖК в ней и цельной крови подопытных животных с моделированным ТБВЛ.

В последнее время успешно развивается точка зрения об исключительной терапевтической эффективности так называемых сверхмалых доз химических и физических факторов, в том числе различных природных и синтетических физиологически активных соединений и лекарственных препаратов [8,9]. Многочисленные экспериментальные исследования подтверждают возможность достижения высокого уровня корригирующей активности при испытании указанных соединений в концентрациях  $10^{-12}$  М и ниже [10], а также использовании физических факторов сверхнизкой интенсивности, например низкоэнергетического инфракрасного гелиум-неонового лазерного облучения [11].

В настоящем исследовании рассматриваются особенности нормализующего действия дрожжевой низкомолекулярной двуспиральной РНК ( $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК), модифицированной в Институте молекулярной биологии НАН РА [12].

Исследования проводили на 30 морских свинках 2-месячного возраста массой 250-300 г, зараженных культурой МБТ штамма Н<sub>37</sub> в дозе 0.0001 мг путем подкожной инъекции в паховую область. По истечении 30 дней на фоне ярко выраженного ТБВЛ производили 10- и 20-дневное внутрибрюшинное введение каждой группе животных  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, растворенную в физ.растворе из расчета 150 мкг/весь вес. Контролем служили 10 больных животных, не подвергнутых действию изучаемого соединения. По истечении отмеченных сроков производили эвтаназию животных под легким эфирным наркозом. Получение ацетоновых порошков гомогенатов легочной ткани, предварительно освобожденных на холоду от оболочек и кровеносных сосудов [13], экстракцию и фракционирование индивидуальных представителей ФЛ осуществляли методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля в системе растворителей хлороформ - метанол - аммиак (65:35:5).

Изолирование и фракционирование НЭЖК проводили на колонках с силикагелем с определением их метиловых эфиров методом газовой хроматографии (Ray Unicom, Англия). Для количественного подсчета содержания отдельных фракций НЭЖК в качестве внутренних стандартов использовали образцы невроновой и лигноцериновой кислот [14] производства "Сигма" (США).

Согласно результатам проведенных исследований, приведенным в табл. 1, развитая форма ТБВЛ характеризуется образованием в легочной ткани высоких концентраций НЭЖК, обладающих ярко выраженным мембранотоксическим, мембранолитическим действием.

Уже на 10-й день развития ТБВЛ констатировалось отчетливо проявляющееся понижение уровня насыщенных пальмитиновой (C<sub>16:0</sub>) и стеариновой (C<sub>18:0</sub>) кислот на фоне ярко выраженного стабильного гипергликемического показателя. Отмеченный сдвиг мы склонны объяснить их интенсивным вовлечением в реакции ацилирования лизопроизводных ФЛ, преимущественно ЛФХ, образующихся в результате деацилирования ФЛ-глицеридов нейтрального ряда, главным образом фосфатидилхолинов, под действием чрезмерно активированной фосфолипазы A<sub>2</sub>.

Таблица 1

Особенности изменения количественного содержания НЭЖК насыщенного и полиенового ряда (в мг%) в легочной ткани морских свинок с ТБВЛ и под действием Ca<sup>2+</sup>-дс-РНК в течение 10 и 20 дней

Жирные кислоты	Контроль	ТБВЛ	Ca <sup>2+</sup> -дс-РНК, 10 дней	Ca <sup>2+</sup> -дс-РНК, 20 дней
Пальмитиновая C <sub>16:0</sub>	20.30 ± 0.51	15.40 ± 0.51*	17.10 ± 0.51*	20.50 ± 0.51**
Стеариновая C <sub>18:0</sub>	30.50 ± 0.63	23.19 ± 0.81*	27.66 ± 0.59*	33.30 ± 0.91**
Олеиновая C <sub>18:1</sub>	34.70 ± 0.73	36.90 ± 0.59*	30.62 ± 0.57*	34.10 ± 0.70***
Линолевая C <sub>18:2</sub>	4.40 ± 0.37	5.90 ± 0.39*	12.61 ± 0.27*	4.80 ± 0.29***
Линоленовая C <sub>18:3</sub>	3.70 ± 0.22	5.10 ± 0.19*	1.50 ± 0.21*	3.80 ± 0.51***
Арахидоновая C <sub>20:4</sub>	6.40 ± 0.57	13.51 ± 0.61*	10.51 ± 0.49*	6.20 ± 0.53***
Сумма насыщенных ЖК C <sub>16:0</sub> + C <sub>18:1</sub> (А)	50.80 ± 0.57	38.59 ± 0.49*	44.76 ± 0.43*	53.80 ± 0.47**
Сумма ненасыщенных ЖК C <sub>18:1</sub> + C <sub>20:4</sub> (В)	49.20 ± 0.33	61.41 ± 0.37*	55.24 ± 0.32*	48.90 ± 0.33**
Коэффициент А/В	1.03	0.63*	0.81*	1.10**

Примечание: n = 12; \* – P < 0.001; \*\* – P < 0.01; \*\*\* – P > 0.5

Этим и объясняется, с одной стороны, увеличение при ТБВЛ количества ЛФХ, с другой, возрастание уровня НЭЖК полиенового ряда. Отмеченный сдвиг оказывается наиболее наглядным в отношении арахидоновой кислоты, функциональная роль которой в различных тканях заслуживает пристального внимания [9].

Результаты исследований последних лет [14] проливают существенный свет на современное понимание роли мембраносвязанных полифосфоинозитидов в реализации каскада постоянно совершающихся процессов трансдукции внешних сигналов внутрь клетки как факторов, стимулирующих системы клеточной активности.

Применение на фоне ТБВЛ  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК в сверхмалых концентрациях ( $10^{-12}$  М) в течение 10 дней способствовало проявлению отчетливо выраженной тенденции к восстановлению исходных уровней изучаемых веществ и их количественных соотношений, хотя и полученные данные продолжали оставаться статистически достоверно отстающими от контрольных величин. Продление срока применения  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК до 20 дней способствовало окончательному упорядочению описанных нарушений в жирнокислотном составе легочной ткани животных с моделированным ТБВЛ.

Примечательно, что аналогичные закономерности были зарегистрированы и в динамике количественных сдвигов конечного продукта СРО липидов – МДА [7].

Как вытекает из данных табл. 2, при 10-дневном действии сверхмалых доз  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК наблюдается четко выраженная тенденция к упорядочению перекисеобразовательного процесса в ферментативной – NADPH-зависимой системе при его одновременном частичном ингибировании и в аскорбатзависимой системе образования МДА.

Таблица 2

**Динамика количественных изменений МДА в легочной ткани морских свинок в контроле, при ТБВЛ и под действием  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК в течение 10 и 20 дней**

Показатели	Контроль	ТБВЛ	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 10 дней	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 20 дней
Аскорбатзависимое перекисление	100±2.3	147.5±1.5*	131.3±1.3*	108.0±1.3***
NADPH-зависимое перекисление	100±2.0	133.4±1.1*	119.4±1.2*	102.0±1.5***

*Примечание:* n = 15; \* – P < 0.001; \*\* – P < 0.01; \*\*\* – P > 0.5

Продление срока действия этого физиологически активного аналога РНК до 20 дней приводит к полнейшей нормализации интенсивности течения процессов СРО липидов и в неферментативной – аскорбатзависимой системе перекисеобразования.

Результаты проведенных наблюдений по качественно-количественным изменениям насыщенных и ненасыщенных ЖК в цельной крови морских свинок с ТБВЛ в развитой стадии заболевания позволили установить однотипность в динамике этих превращений с теми, что были прослежены в легочной ткани тех же животных. Как явствует из данных, отраженных в табл. 3, в цельной крови интактных животных прослеживается совершенно однозначное соблюдение статуса количественных соотношений суммы первых к сумме вторых. Аналогичная закономерность регистрируется и в

условиях изучаемой патологии, а также на фоне 10- и 20-дневного применения  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК.

Таблица 3

Особенности изменения количественного содержания НЭЖК насыщенного и полиенового ряда (в мг%) в цельной крови морских свинок с ТБВЛ и под действием  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК в течение 10 и 20 дней

Жирные кислоты	Контроль	ТБВЛ	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 10 дней	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 20 дней
Пальмитиновая $\text{C}_{16:0}$	19.90 ± 0.49	18.10 ± 0.43*	15.90 ± 0.45*	16.90 ± 0.43*
Стеариновая $\text{C}_{18:0}$	30.30 ± 0.61	29.90 ± 0.57*	32.90 ± 0.51*	33.00 ± 0.49*
Олеиновая $\text{C}_{18:1}$	23.50 ± 0.63	18.50 ± 0.53*	20.00 ± 0.55*	21.80 ± 0.51**
Линолевая $\text{C}_{18:2}$	7.40 ± 0.47	5.40 ± 0.18*	6.00 ± 0.19*	6.20 ± 0.50**
Линоленовая $\text{C}_{18:3}$	6.20 ± 0.49	4.20 ± 0.17*	5.60 ± 0.19*	5.20 ± 0.47**
Арахидоновая $\text{C}_{20:4}$	12.70 ± 0.43	26.90 ± 0.43*	19.60 ± 0.43*	17.50 ± 0.41*
Сумма насыщенных ЖК $\text{C}_{16:0} + \text{C}_{18:1}$ (А)	50.20 ± 0.47	45.00 ± 0.51*	48.80 ± 0.49*	49.90 ± 0.47***
Сумма ненасыщенных ЖК $\text{C}_{18:1} + \text{C}_{20:4}$ (В)	49.80 ± 0.39	55.00 ± 0.41*	51.20 ± 0.43*	50.70 ± 0.77***
Коэффициент А/В	1.01	0.82*	0.95**	0.98***

Примечание:  $n = 15$ ; \* –  $P < 0.001$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P > 0.5$

Что касается срывов интенсивности течения СРО липидов на уровне цельной крови, то по данным табл. 4 более выраженное активирование этого процесса регистрируется в неферментативной аскорбатзависимой системе перекисления.

Как и в предыдущем случае, 10-дневное применение  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК здесь также сопровождается отчетливо проявляющейся тенденцией к упорядочению характерной для нормы интенсивности течения перекисеобразовательного процесса, хотя и по истечении указанного срока уровень МДА продолжал статистически достоверно доминировать над таковым у практически интактных животных с окончательным упорядочением его лишь при продлении срока применения  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК до 20 дней.

Таким образом, можно сделать заключение о значительном превышении содержания МДА в цельной крови пораженных животных в развитой стадии заболевания. Однако не исключено участие в его формировании не только систем перекисеобразования, функционирующих на уровне отдельных элементов крови, но и других тканевых механизмов патологически измененного организма, выбрасывающих продукты перекисления липидов

в общий кровоток. Затронутый вопрос подробно рассмотрен в серии экспериментальных исследований по моделированному аллоксаном сахарному диабету в лаборатории липидологии Института молекулярной биологии НАН РА [15].

Таблица 4

**Динамика количественных изменений продуктов перекисления ЖК (в % МДА) в цельной крови морских свинок при ТБВЛ и под действием  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК в течение 10 и 20 дней**

Показатели	Контроль	ТБВЛ	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 10 дней	$\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК, 20 дней
Аскорбатзависимое перекисление	100.0±3.1	197.0±3.7*	139.0±3.3**	113.0±2.5***
NADPH-зависимое перекисление	100.0±2.7	161.0±2.1*	121.0±1.9**	106.0±1.9***

*Примечание:*  $n = 15$ ; \* –  $P < 0.001$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P > 0.5$

На основании полученных результатов можно прийти к заключению об исключительной эффективности сверхмалых доз  $\text{Ca}^{2+}$ -дс-РНК в коррекции нарушений качественно-количественных превращений ЖК различных категорий в легочной ткани и цельной крови морских свинок с моделированным ТБВЛ.

Научно-технологический центр органической и  
фармацевтической химии НАН РА  
Республиканский противотуберкулезный диспансер МЗ РА

**Академик К. Г. Карагезян, М. Д. Сафарян, С. С. Овакимян, О. М. Амирханян**

**Особенности корректирующего действия сверхнизких концентраций кальциевого преципитата двуспиральной РНК на нарушенные звенья липидного метаболизма у морских свинок с туберкулезным воспалением легких**

Туберкулезное воспаление легких у морских свинок сопровождается чувствительными расстройствами в легочной ткани и цельной крови филогенетически запрограммированного постоянства фосфолипид-фосфолипидных соотношений. Отмеченные расстройства обусловлены значительным активированием процессов диацилирования фосфолипидов-глицеридов, преимущественно фосфатидилхолинов, характеризующихся образованием высоких концентраций лизофосфатидилхолинов, обладающих мощным мембранотоксическим и мембранолитическим действием.

Выделяющиеся при этом неэстерифицированные жирные кислоты, главным образом полиеновой природы, представлены преимущественно арахидоновой кислотой, являющейся предшественником образования ряда сильно действующих физиологически активных соединений. Применение кальциевого преципитата дрожжевой низкомолекулярной двуспиральной РНК на протяжении 10 и особенно 20 дней приводит к корригированию расстроенного качественно-количественного состава фосфолипидов различных категорий, а также насыщенных и полиеновых жирных кислот и продуктов их перекисления в легочной ткани и цельной крови морских свинок с туберкулезным воспалением легких.

**Ավադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Մ. Դ. Սաֆարյան, Ս. Ս. Նովակիմյան,  
Ն. Մ. Ամիրխանյան**

**Ցածր մոլեկուլային երկպարույր ՌՆԹ-ի գերցածր քանակների կարգավորիչ ազդեցության առանձնահատկությունները ծովախոզուկների թոքերի փորձարարական փոփոխությունների պայմաններում ֆոսֆոլիպիդների փոխանակության խախտված օղակների վրա**

Ծովախոզուկների թոքերի փոփոխությունների բորբոքումը գուցարդվում է թոքային հյուսվածքում եւ ամբողջական արյան մեջ ֆիլոգենետիկորեն ծրագրված ֆոսֆոլիպիդ-ֆոսֆոլիպիդային հարաբերակցության զգալի խանգարումներով: Նշված խախտումները պայմանավորված են գլիցերինային շարքին պատկանող ֆոսֆոլիպիդների, գլխավորապես ֆոսֆատիդիլիտինների, վառ արտահայտված դեպիլացմամբ, որը բնութագրվում է լիզոֆոսֆատիդիլիտինների բարձր քանակությունների առաջացմամբ, նյութեր, որոնք օժտված են թաղանթատրոսիկ, թաղանթալիպիկ հատկություններով: Այս պայմաններում արտազարվող ազատ, ոչ էսթերիֆիկացված, հիմնականում պոլիենային շարքին պատկանող, ճարպաթթուների զգալի քանակը ներկայացված է արախիդոնաթթվով, որն մի շարք կարեւորագույն ֆիզիոլոգիապես ակտիվ միացությունների սկզբնաղբյուրն է: Սնկային ցածրամոլեկուլային երկպարույր ՌՆԹ-ի կալցիումական ածանցյալի 10 եւ առավել եւս 20-օրյա օգտագործումը բերում է ֆոսֆոլիպիդների տարբեր տարատեսակների, ինչպես նաեւ հագեցած եւ չհագեցած ճարպաթթուների եւ դրանցից առաջացած գերօքսիդների բաղադրության որակաքանակական վերը նշված խախտումների վերականգնմանը:

**Academician K.G. Karageuzyan, M.D. Safaryan, S.S. Hovakimyan, H.M. Amirkhanyan**  
**Specificities of the Normalizing Action of Low Concentrations of the Calcium Precipitate of Double Stranded RNA on Disorders of Phospholipids Metabolism of Guinea-pigs Tuberculosis of Lungs**

The obtained data have shown that tuberculosis of lungs at guinea-pigs is characterized by significant disorders in lung tissue and whole blood phylogenetically stabilized permanence in phospholipid-phospholipid interrelations. The mentioned changes are

conditioned by pronounced activation of phosphatidyl-glycerides, mainly of phosphatidylcholines deacylation, which lead to the formation of high concentrations of lysophosphatidylcholines, which are known as substances with membranotoxic membranolytic properties. Big quantities of unetherified fatty acids mainly with polyenic nature are represented by arachidonic acid, which is precursor of numerous physiologically very active compounds. Using of calcium precipitate of the mushroom low molecular doublestranded RNA during 10 and especially 20 days leads to the correction of disorders mentioned in qualitative-quantitative abnormalities of different categories of phospholipids, saturated and polyenic fatty acids as well as of lipid peroxides in the leaving systems studied.

## Литература

1. *Мартикян А.Р., Вартанян Г.С., Карагезян К.Г.* - Нейрохимия. 1982. Т. 1. N3. С. 194-196.
2. *Карагезян К.Г.* В кн.: Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван. Айастан. 1972. 267 с.
3. *Карагезян К.Г., Сафарян М.Д.* - Проблемы туберкулеза. 1990. N8. С. 31-33.
4. *Карагезян К.Г. Погосян А.Ю., Овсепян Л.М.* - ДАН РФ. 1994. Т. 334. N1. С. 169-173.
5. *Крепс Е.М.* В кн.: Липиды клеточных мембран. Л. Наука, 1981. 330 с.
6. *Сафарян М.Д., Карагезян К.Г.* - Клин. мед. 1991. N7. С. 31-33.
7. *Карагезян К.Г., Сафарян М.Д., Арутюнян Д.А., Овакимян С.С.* - ДНАН Армении. 2008. Т. 108. N2. С. 157-164.
8. *Бурлакова Е.Б.* - Вестник РАН. 1994. Т. 64. N5. С. 425-431.
9. *Бурлакова Е.Б.* - Рос. хим. ж. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева), 1999. Т. 43. N5. С. 336-341.
10. *Пальмина Н.П., Мальцева Е.П., Пынзарь Е.И., Бурлакова Е.Б.* - Рос. хим. ж. (Журн. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева), 1999. Т. 43. N5. С. 55-63.
11. *Карагезян К.Г., Едоян А.Р., Карян Ш.С., Овсепян Л.М., Аганянц М.А., Мартиросян Э.А.* - Вестн. междунар. АН экологии и безопасности жизнедеятельности. СПб. 2003. Т. 86. N4. С. 194-196.
12. *Агабалян А.С., Агавелян А.М., Давтян О.Я., Макарян А.П., Акопян А.С., Карагезян К.Г.* - ДНАН Армении. 1998. Т. 98. N 2. С. 166-169.
13. *Карагезян К.Г., Сафарян М.Д., Карапетян Э.Т.* - Вопр. мед. хим. 1989. N4. С. 11-12.
14. *Тадевосян Ю.В., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Карагезян К.Г., Тадевосян А.Ю.* - Биохимия. 1996. Т. 61. N. 8. С. 1414-1421.
15. *Карагезян К.Г., Едоян А.Р., Карян Ш.С., Едоян Л.В.* - ДНАН Армении. 2003. Т. 103. N4. С. 336-341.