

Верхневолжский медицинский журнал. 2024; 23(1): 55–58
Upper Volga Medical Journal. 2024; 23 (1): 55–58
УДК 616.24-002.5-085.28-06:616.153.915

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЛИПИДНОГО СПЕКТРА МЕМБРАН ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

**Дмитрий Сергеевич Рясенский¹, Наталья Анатольевна Гришкина²,
Мария Викторовна Гурьянова²**

¹Кафедра фтизиатрии,

²кафедра инфекционных болезней с курсом эпидемиологии

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, г. Тверь, Россия

Аннотация. В исследовании 308 пациентов с туберкулезом легких, получавших химиотерапию по первому стандартному режиму, дана оценка липидного спектра биомембран иммунокомпетентных клеток до начала химиотерапии и после окончания ее интенсивной фазы сравнительно с 36 здоровыми добровольцами. В спектре общих липидов определяли общие фосфолипиды, свободный холестерин, свободные жирные кислоты, триглицериды, эфиры холестерина. В спектре фосфолипидов определяли суммарные лизофосфолипиды, сфингомиелин, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфатидилэтанолламин. Выявленные изменения свидетельствуют о выраженной дезорганизации мембран мононуклеаров. У больных туберкулезом легких до лечения изменения обусловлены действием инфекта, после интенсивной фазы химиотерапии ряд показателей возвращались к норме. При этом химиотерапия оказывает выраженный токсический эффект, результатом которого является нарушение соотношений важнейших классов липидов и, как следствие, снижение иммунологической реактивности организма.

Ключевые слова: туберкулез, иммунитет, липидный спектр, фосфолипиды, биомембраны, противотуберкулезная химиотерапия

Для цитирования: Рясенский Д.С., Гришкина Н.А. Гурьянова М.В. Патологические изменения состава липидного спектра мембран иммунокомпетентных клеток у больных туберкулезом легких на фоне противотуберкулезной химиотерапии. Верхневолжский медицинский журнал. 2024; 23(1): 55–58.

PATHOLOGICAL CHANGES IN THE COMPOSITION OF THE LIPID SPECTRUM OF MEMBRANES OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS DURING ANTI-TUBERCULOSIS CHEMOTHERAPY

D. S. Ryasenskiy, N. A. Grihkina, M. V. Gurianova

Tver State Medical University, Tver, Russia

Abstract. In a study of 308 patients with pulmonary tuberculosis who received chemotherapy according to the first standard regimen, the lipid spectrum of the biomembranes of immunocompetent cells was assessed before the start of chemotherapy and after the end of its intensive phase in comparison with 36 healthy volunteers. In the spectrum of total lipids, total phospholipids, free cholesterol, free fatty acids, triglycerides, and cholesteryl esters were determined. In the spectrum of phospholipids total lysophospholipids, sphingomyelin, phosphatidylinositol, phosphatidylcholine, phosphatidylserine, and phosphatidylethanolamine were determined. The identified changes indicate pronounced disorganization of mononuclear cell membranes. In patients with pulmonary tuberculosis, before treatment, the changes were due to the effect of the infection; after the intensive phase of chemotherapy, a number of indicators returned to normal. In this case, chemotherapy has a pronounced toxic effect, the result of which is a violation of the ratios of the most important classes of lipids and, as a consequence, a decrease in the immunological reactivity of the body.

Keywords: tuberculosis, immunity, lipid spectrum, phospholipids, biomembranes, anti-tuberculosis chemotherapy

For citation: Ryasenskiy D.S., Grihkina N.A., Gurianova M.V. Pathological changes in the composition of the lipid spectrum of membranes of immunocompetent cells in patients with pulmonary tuberculosis during anti-tuberculosis chemotherapy. Upper Volga Medical Journal. 2024; 23(1): 55–58.

Введение

Туберкулез остается одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения Российской Федерации, что подтверждается высоким уровнем заболеваемости населения всеми формами этого заболевания [1]. Это заболевание характеризуется длительным течением и значительными изменениями многих биохимических процессов в организме, вызванными как непосредственно воздействием инфекции, так и продолжительным применением противотуберкулезных химиопрепаратов. Согласно данным исследований, этиотропная терапия, направленная на подавление роста микобактерий, оказывает различные токсические воздействия на гепатобилиарную, нервную и иммунную системы [2, 3].

Большую чувствительность к разнообразным биологическим и химическим воздействиям проявляет липидный спектр крови. Изменения в соотношениях отдельных фракций липидов могут свидетельствовать о патологических процессах, вызванных туберкулезной инфекцией и применением химиопрепаратов в ходе терапии. Особенно высокую чувствительность к инфекционному воздействию проявляют мембраны иммунокомпетентных клеток [4, 5]. Уникальные особенности липидного состава бислойа в иммунокомпетентных клетках пациентов, страдающих туберкулезом, определяют их высокую чувствительность к воздействию как внешних факторов, так и внутренних изменений в макроорганизме. Исследование процессов иммунорегуляции и патологических состояний, связанных с нарушением баланса липидных компонентов мембран, является фундаментом для формирования инновационных подходов к иммунокоррекции. Применение таких терапевтических стратегий создает благоприятные условия для развития адекватного иммунного ответа на всех этапах лечения туберкулеза, способствуя сокращению сроков терапии и повышению ее эффективности [6].

Цель исследования — выявить патологические изменения липидного спектра биомембран иммунокомпетентных клеток у больных туберкулезом легких до лечения и после окончания интенсивной фазы противотуберкулезной химиотерапии.

Материал и методы исследования

В рамках настоящего исследования был осуществлен анализ состояния 308 пациентов с туберкулезом легких, которые находились под медицинским наблюдением в Тверском областном клиническом противотуберкулезном диспансере. Все субъекты исследования принадлежали к возрастной группе от 25 до 60 лет в соответствии с категоризацией, предложенной Всемирной организацией здравоохранения. Гендерное распределение обследованных было равномерным, включая представителей обоих полов, в соответствии с критериями включения-исключения. Критерии включения: информированное согласие, отсутствие выявленных сопутствующих соматических или инфекционных патологий, а также подтвержденный туберкулез легких без признаков распада, последующее лечение по стандартному режиму. Критерии исключения: отказ от продолжения терапии,

обнаружение сопутствующей патологии, появление признаков распада, а также выявление устойчивости микобактериальной флоры или индивидуальной непереносимости препаратов первого ряда. Контрольную группу составили 36 здоровых добровольцев обоих полов в равном соотношении в возрасте от 25 до 60 лет без диагностированной сопутствующей соматической и инфекционной патологии.

Диагноз туберкулеза легких был установлен на основе результатов микроскопического и бактериологического анализа мокроты, а также рентгенологического изучения органов дыхания. Исследование пациентов с туберкулезом легких проводилось как до начала противотуберкулезной химиотерапии, так и после завершения интенсивной фазы лечения. Первую группу составили пациенты с туберкулезом легких перед началом противотуберкулезной химиотерапии, общее количество которых составило 308 человек. Вторую группу представляли пациенты с туберкулезом легких после завершения интенсивной фазы противотуберкулезной химиотерапии также в количестве 308 человек.

Все пациенты получали противотуберкулезную терапию в соответствии с первым стандартным режимом, включающим изониазид, рифампицин, пипразинамид и этамбутол в стандартных дозировках, рассчитанных в соответствии с массой тела пациента [7]. Лекарственные препараты вводились как перорально, так и парентерально.

Мононуклеарные клетки были выделены из венозной крови с использованием градиента плотности. Экстракция липидов была проведена согласно методу Фолча. Определение липидного спектра мембран иммунокомпетентных клеток осуществлялось с применением метода проточной тонкослойной хроматографии. Полученные хроматограммы проявляли в парах серной кислоты, оцифровывали и денситометрировали. В спектре общих липидов определяли общие фосфолипиды (ФЛ), свободный холестерин (СХ), свободные жирные кислоты (СЖК), триглицериды (ТГ), эфиры холестерина (ЭХ). В спектре фосфолипидов определяли следующие фракции: суммарные лизофосфолипиды (ЛФЛ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилэтанолламин (ФЭ). Денситометрическую обработку цифровых сканов хроматограмм проводили с использованием программного комплекса Хромоскан. Для расчета площади пиков, частично перекрывающихся друг друга, применяли метод аппроксимации. Для определения процентного содержания липидов в каждой фракции общая площадь всех анализируемых пиков делится на площадь пика, соответствующего данной фракции [8].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программных средств Statistica 10 и Microsoft Excel. Для обработки полученных значений использовали среднее арифметическое (М), среднее квадратичное отклонение (сигма), а для нормально распределенных параметров ошибку среднего арифметического (m). Сравнение двух групп осуществляли с использованием Т-критерия Стьюдента. Доверительные границы определялись по вероятности

ошибочного суждения, при этом значимой разницы считалась при $p < 0,05$ [9].

Результаты исследования и обсуждение

Анализ полученных данных выявил следующие характерные особенности спектра общих липидов плазматических мембран (табл. 1). Уровень ФЛ у пациентов до начала лечения и после завершения интенсивной фазы терапии не различался и был статистически значимо ниже, чем у здоровых добровольцев. Напротив, относительное содержание СХ оказалось повышенным у пациентов с туберкулезом как перед началом лечения, так и после завершения интенсивной фазы химиотерапии. Значение этой фракции после лечения статистически значимо возросло ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем до начала терапии. Уровень СЖК был наименьшим после завершения курса химиотерапии, однако у пациентов до начала лечения также статистически значимо снижен ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Изменения в значениях фракции ТГ у пациентов до начала химиотерапии и после ее завершения проявили различную направленность. До начала лечения уровень ТГ был статистически выше нормы ($p < 0,05$), в то время как после терапии он снижался и статистически не отличался от значений в контрольной группе ($p > 0,05$). Уровень ЭХ до начала лечения и после его интенсивной фазы не отличался статистически от показателей здоровых добровольцев ($p > 0,05$). Однако до начала лечения значение этой фракции было статистически ниже, чем у пациентов после химиотерапии ($p < 0,05$).

Таблица 1. Спектр общих липидов плазматических мембран мононуклеаров

Table 1. Spectrum of total lipids in the plasma membranes of mononuclear cells

Фракции общих липидов	Статистическая значимость различий	Показатели липидов ($M \pm m$), %		
		Контрольная группа ($n = 36$)	Группа 1 ($n = 308$)	Группа 2 ($n = 308$)
ФЛ	$P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 > 0,05$	$35,2 \pm 0,7$	$32,0 \pm 0,5$	$32,0 \pm 0,5$
СХ	$P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 < 0,05$	$26,6 \pm 0,5$	$29,9 \pm 0,4$	$32,4 \pm 0,4$
СЖК	$P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 < 0,05$	$4,8 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$
ТГ	$P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,05$	$14,2 \pm 0,6$	$16,3 \pm 0,4$	$13,5 \pm 0,4$
ЭХ	$P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,05$	$19,1 \pm 0,6$	$18,0 \pm 0,6$	$19,0 \pm 0,5$

Примечание. Группа 1 — больные туберкулезом до начала лечения; группа 2 — больные туберкулезом после окончания интенсивной фазы химиотерапии. P_1 — значимость различий показателей липидов контрольной группы по отношению к группе 1; P_2 — значимость различий показателей липидов контрольной группы по отношению к группе 2; P_3 — значимость различий показателей липидов группы 1 по отношению к группе 2.

При анализе соотношений фосфолипидных фракций мембран мононуклеарных клеток у пациентов с туберкулезом легких были выявлены следующие характерные особенности. Уровень общих ЛФЛ до начала терапии не отличался статистически от контрольных значений, установленных у здоровых добровольцев. Однако после завершения интенсивной фазы химиотерапии этот показатель резко возрастал и становился статистически значимо выше, чем в контрольной группе и в группе пациентов до начала лечения. Относительное содержание СМ в мембранах мононуклеарных клеток снижалось как до начала лечения, так и после его завершения. Этот параметр не демонстрировал статистически значимых различий между группами больных туберкулезом ($p > 0,05$). Фракция ФИ у пациентов с туберкулезом до начала лечения превышала данное значение у здоровых добровольцев более чем в два раза. По результатам пройденного курса химиотерапии наблюдалось уменьшение содержания ФИ в мембране мононуклеарных клеток на 0,3 %, однако эти изменения не достигали статистической значимости ($p > 0,05$). Относительное содержание ФХ у пациентов с туберкулезом было значительно ниже по сравнению со здоровыми лицами. После проведения лечения данный показатель снижался еще больше, различие с контрольными значениями в группе здоровых добровольцев составляло 9,8 %.

Уровень ФС также уменьшался у больных туберкулезом, однако до начала лечения этот показатель был достоверно ниже, чем у пациентов после завершения интенсивной фазы терапии ($p < 0,05$). Относительное содержание ФЭ было сопоставимым у пациентов с туберкулезом легких до и после лечения и не отличалось статистически значимо в этих группах ($p > 0,05$). Однако по сравнению с контрольной группой здоровых добровольцев оно было статистически значимо выше ($p < 0,05$) в обоих случаях (табл. 2).

Таким образом, у пациентов с туберкулезом легких наблюдалось существенное изменение состава липидов и фосфолипидов в мембранах мононуклеарных клеток, как перед началом лечения, так и после проведенной противотуберкулезной химиотерапии. При этом изменения в относительном содержании фосфолипидов, свободных жирных кислот, свободного холестерина, сфингомиелина, фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина носили однонаправленный характер, а изменения в относительном содержании триглицеридов, эфиров холестерина и лизофосфолипидов — разнонаправленный. В группе больных до лечения норме соответствовали только показатели фракции эфиров холестерина и лизофосфолипидов, а после интенсивной фазы химиотерапии — триглицеридов и эфиров холестерина. Эти изменения свидетельствуют о существенной дезорганизации липидных мембран мононуклеарных клеток. Перед началом лечения эти изменения были обусловлены действием инфекции, и после терапии некоторые показатели восстанавливались до нормы. При этом химиотерапия оказывала выраженное токсическое воздействие, что приводило к нарушению баланса важнейших классов липидов и накоплению токсичных фрак-

ций лизофосфолипидов, а, следовательно, — к снижению иммунологической реактивности организма.

Таблица 2. Спектр фосфолипидов плазматических мембран мононуклеаров

Table 2. Spectrum of phospholipids in plasma membranes of mononuclear cells

Фракции фосфолипидов	Статистическая значимость различий	Показатели липидов, (M ± m), %		
		Контрольная группа (n = 36)	Группа 2 (n = 308)	Группа 3 (n = 308)
ЛФЛ	P ₁ > 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05	7,1 ± 0,3	6,8 ± 0,2	11,4 ± 0,1
СМ	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ > 0,05	18,6 ± 0,5	14,9 ± 0,4	14,7 ± 0,3
ФИ	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ > 0,05	5,3 ± 0,3	10,9 ± 0,1	10,6 ± 0,2
ФХ	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05	43,4 ± 0,8	38,9 ± 0,5	33,6 ± 0,5
ФС	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05	5,1 ± 0,3	2,4 ± 0,2	3,6 ± 0,2
ФЭ	P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,05 P ₃ > 0,05	20,5 ± 0,5	26,1 ± 0,4	26,0 ± 0,4

Примечание. Группа 1 — больные туберкулезом до начала лечения; группа 2 — больные туберкулезом после окончания интенсивной фазы химиотерапии. P₁ — значимость различий показателей липидов контрольной группы по отношению к группе 1; P₂ — значимость различий показателей липидов контрольной группы по отношению к группе 2; P₃ — значимость различий показателей липидов группы 1 по отношению к группе 2.

Выводы

1. У больных туберкулезом лёгких до начала химиотерапии имеются значительные отклонения липидного спектра мембран мононуклеаров по сравнению со здоровыми добровольцами, обусловленные адаптационными реакциями организма и патологической перестройкой мембран под действием туберкулезной инфекции.
2. На фоне противотуберкулезной химиотерапии по первому стандартному режиму происходит сдвиг относительного содержания отдельных фракций липидного спектра мембран мононуклеаров. При этом изменения в относительном содержании фосфолипидов, свободного холестерина, свободных жирных кислот, сфингомиелина, фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина носили однонаправленный характер, а изменения в относительном содержании триглицеридов, эфиров холестерина и лизофосфолипидов — разнонаправленный.
3. В конце интенсивной фазы противотуберкулезной химиотерапии намечается тенденция к нормализации липидного соотношения в мононуклеарах, однако токсический эффект противотуберкулезных химиопрепаратов приводит к накоплению цито-

токсичных фракций лизофосфолипидов на мембранах иммуноцитов, что негативно влияет на их функциональную активность.

Список источников

1. Рясенский Д.С., Асеев А.В., Зубарева Г.М. Влияние противотуберкулезных препаратов первого ряда на уровень токсических фосфолипидов плазмы. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020; 6(4): 515–523. doi: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-7
2. Мишин В.Ю., Чуканов В.И., Григорьев Ю.Г. Побочное действие противотуберкулезных препаратов при стандартных и индивидуализированных режимах химиотерапии. Москва: Компьютербург. 2004: 208.
3. Меркулов С.А., Королева М.В. Особенности лекарственного поражения печени у больных туберкулезом лёгких, получающих специфическую терапию. Врач-аспирант. 2012; 6.1(55): 217–222.
4. Crain R.C. Phospholipids transfer proteins as of membrane structure and function. Subcell. Biochem. 1990; 16: 45–67. doi: 10.1007/978-1-4899-1621-1_3
5. Bishop W.R., Bell R.M. Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. Annu Rev Cell Biol. 1988; 4: 579–610. doi: 10.1146/annurev.cb.04.110188.003051
6. Рясенский Д.С., Асеев А.В., Гришкина Н.А. Повышение эффективности лечения больных туберкулезом легких, получающих противотуберкулезную химиотерапию по первому стандартному режиму. Верхневолжский медицинский журнал. 2023; 22(2): 33–36.
7. Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 № 109 ред. от 29.10.2009 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» определяет основные мероприятия по реализации стратегии противотуберкулезной помощи населению РФ». URL: <http://www.rulaws.ru> (дата обращения: 18.11.2023).
8. Рясенский Д.С., Макаров В.К. Применение компьютерных программ для денситометрии липидного состава крови. Фармация. 2008; 1: 5–7.
9. Елисеева И.И., Курьшева С.В., Егорова И.И. Статистика. Москва: Проспект. 2015: 448.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Рясенский Дмитрий Сергеевич (контактное лицо) — к.м.н., доцент, заведующий кафедрой фтизиатрии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России; 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4; meddim3@mail.ru

Поступила в редакцию / The article received 25.11.2023.