

Лабораторно-экспериментальные исследования

УДК 616.24-002.5-07:616.155.1-008.934.562.3

Канд. мед. наук Р. В. РОМАНОВСКИЙ, доктор биол. наук А. А. ЧИРКИН

ОСОБЕННОСТИ ПРЕВРАЩЕНИЙ ГЛЮКОЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Витебский медицинский институт

Актуальной задачей современной фтизиатрии является поиск объективных критериев для установления активности туберкулеза и контроля за эффективностью проводимого лечения. В ее решении большое значение придается использованию методов клеточной биохимии. Учитывая роль эритроцитов в газообмене, а также наличие поражений легких, где осуществляется газообмен, мы сочли целесообразным изучить соотношение гликолиза и пентозофосфатного пути (ПФП) обмена углеводов в этих клетках у больных с различными формами туберкулеза легких. Нами изучена также активность важнейших ферментов гликолиза, глюконеогенеза и ПФП в гемолизатах эритроцитов больных.

Обследовано 196 больных активным туберкулезом легких, в том числе 159 впервые заболевших, 15 с рецидивом заболевания и 22 с фиброзно-кавернозными процессами. Лиц мужского пола было 130, женского — 66. В возрасте 17—19 лет было 7 больных, 20—29 лет — 38, 30—39 лет — 57, 40—49 лет — 38, 50—59 лет — 17, 60—69 лет — 24, 70—79 лет — 14, 82 лет — 1. Очаговый туберкулез определялся у 57, инфильтративный — у 80, диссеминированный — у 37, фиброзно-кавернозный — у 22 больных. Деструктивные изменения в легких выявлены у 131 обследованного, из них у 13 больных с очаговым, у 65 с инфильтративным, у 31 с диссеминированным туберкулезом легких. У 142 больных обнаружены микобактерии туберкулеза.

Сочетание туберкулеза легких с другими локализациями процесса выявлено у 22 (11,2 %) больных: у 12 имелось поражение гортани и бронхов, у 7 — экссудативный плеврит, у 2 — эмпиема, у 1 — поражение почки. В периферической крови обнаружены нормохромная анемия у 25 (13,3 %) чело-

век, лейкоцитоз у 74 (37,7 %), увеличение количества нейтрофилов у 29 (14,8 %), повышение СОЭ у 99 (50,5 %).

Обследовано также 12 человек с утратившими активность фиброзно-очаговыми изменениями в легких, у которых не отмечалось клинических признаков активности процесса, отсутствовала рентгенологическая динамика и были отрицательными результаты многократных бактериологических исследований. В сомнительных случаях проводилась проба с подкожным введением туберкулина в дозе 50 ТЕ. Контрольную группу составили 32 здоровых человека (из них 16 мужчин) в возрасте 18—32 лет. Кроме того, обследовано 22 больных с острой затяжной и хронической пневмонией в фазе обострения.

Интенсивность ПФП в цельных эритроцитах исследовали по методу И. Шонка в модификации А. А. Чиркина. Одновременно определяли прирост пентоз (Δ рибозы) и убыль глюкозы (Δ глюкозы). Δ рибозы и Δ глюкозы выражали в миллимолях на 1 л эритроцитов за 2 ч при 37 °С. Отношение $\frac{\Delta \text{рибозы}}{\Delta \text{глюкозы}} \times 100$ является объек-

тивным выражением доли глюкозы (в процентах), превращаемой через ПФП. Величины параметров ПФП эритроцитов, определенные по этому методу, соответствуют данным литературы (Hildmann и Zillmann). При исследовании интенсивности ПФП в эритроцитах особое значение имеет качество их отмывки, поскольку лейкоциты используют глюкозу в 20 раз быстрее, чем эритроциты (Hodges и Gruber).

Для исследования ключевых ферментов обмена углеводов отмывые эритроциты гемолизовали дистиллированной водой в отношении 1:9. После осаждения теней эритроцитов (мем-

бран) центрифугированием на холоду надосадочную жидкость использовали как источник ферментов.

В гемолизатах эритроцитов (разведение 1:50) по методу Ю. Л. Захарьина определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — Г-6-ФДГ (КФ 1.1.49) и выражали ее в миллимолях НАДФ на 1 л за 60 мин при 25°C. Активность рибозо-5-фосфатметаболизирующих ферментов (Р-5-ФМФ) определяли в гемолизатах (разведение 1:10) по убыли рибозо-5-фосфата (Р-5-Ф) из инкубационной среды в соответствии с рекомендациями Р.-М. Р. Шатинскене и А. И. Колотиловой, А. М. Каразе и А. И. Колотиловой. Выражали активность Р-5-ФМФ в миллимолях Р-5-Ф на 1 л за 1 мин при 37°C. Активность фосфофруктокиназы — ФФК (КФ 2.7.11) в гемолизатах эритроцитов (разведение 1:10) определяли по А. И. Куликовой и выражали в миллимолях диоксиацетона на 1 л эритроцитов за 1 мин при 37°C. Активность фруктозо-1,6-дифосфатазы — Ф-1,6-ДФазы (КФ 3.1.3.11) определяли в гемолизатах (разведение 1:10) по методу Weber и Santero при рН инкубационной среды 9,5 (М. Д. Балябина и М. С. Усатенко; Pontremoli и соавт.). При исследовании активности Ф-1,6-ДФазы в методику были внесены некоторые изменения. При определении неорганического фосфата нами был использован принцип введения внутрннего стандарта (готовился непосредственно перед исследованием) и последующего вычисления по формуле (Harper и Young). В качестве

восстановителя вместо эйконогена ($4,2 \cdot 10^{-2}$ М) мы применили 1% раствор аскорбиновой кислоты. Активность Ф-1,6-ДФазы в гемолизатах выражали в миллимолях неорганического фосфора на 1 л эритроцитов за 1 мин при 37°C.

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту с определением критерия t и достоверности различий (P).

Как известно, в эритроцитах человека нет запасов гликогена и редуцирован цикл трикарбоновых кислот. Поэтому глюкоза превращается в эритроцитах главным образом через реакции гликолиза и ПФП. Следует отметить, что содержание глюкозы в крови больных не отличалось от такового у здоровых людей. Исходный пул глюкозы, используемый для обмена в эритроцитах, практически одинаков при различных формах туберкулеза легких. Не нарушается, по-видимому, и транспорт глюкозы через мембраны эритроцитов, так как потребление глюкозы из среды этими клетками у больных было таким же, как и у здоровых лиц (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что в гемолизатах эритроцитов больных очаговым и диссеминированным туберкулезом легких повышается активность ФФК. Активность Ф-1,6-ДФазы достоверно возрастает при очаговом и инфильтративном туберкулезе. Тенденция к повышению активности ФФК определялась при фиброзно-кавернозном, а активности Ф-1,6-ДФазы — при диссеминированном туберкулезе. Такое синхронное

Т а б л и ц а 1

Потребление глюкозы эритроцитами больных туберкулезом легких и активность ФФК и Ф-1,6-ДФазы в гемолизатах эритроцитов ($M \pm m$)

Клиническая форма туберкулеза	Δ глюкозы		ФФК		Ф-1,6-ДФаза	
	<i>n</i>	ммоль/л	<i>n</i>	ммоль/л	<i>n</i>	ммоль/л
Очаговая	49	1,01±0,058	25	2,56±0,210*	27	73,1±14,47*
Инфильтративная	52	1,14±0,072	31	2,26±0,157	32	73,5±9,84*
Диссеминированная	32	1,20±0,090	14	3,02±0,404*	15	53,5±11,02
Фиброзно-кавернозная	20	1,23±0,100	7	2,63±0,302	8	51,5±15,84
Контроль (здоровые лица)	31	1,15±0,063	13	1,89±0,187	15	32,4±5,93

Примечание. Здесь и в табл. 2 *n* — число обследованных; звездочка — достоверность различий с контролем ($P < 0,05$).

Синтез пентоз в эритроцитах и активность ферментов ПФП в гемолизатах эритроцитов больных туберкулезом легких ($M \pm m$)

Клиническая форма туберкулеза	Δ рибозы		Г-6-ФДГ		Р-5-ФМФ	
	n	ммоль/л	n	ммоль/л	n	ммоль/л
Очаговая	49	0,14±0,009*	24	38,6±2,84	28	0,62±0,031
Инфильтративная	52	0,15±0,010*	32	42,7±1,81	32	0,66±0,025
Диссеминированная	32	0,16±0,018*	14	43,4±2,54	16	0,70±0,044*
Фиброзно-кавернозная	20	0,12±0,012*	8	44,8±2,64	8	0,65±0,059
Контроль (здоровые лица)	31	0,09±0,005	15	39,3±2,56	15	0,57±0,040

повышение активности ферментов, катализирующих противоположно направленные процессы, может быть следствием функционирования энергетически расточительного цикла в системе фруктозо-6-фосфат ⇌ фруктозо-1,6-дифосфат при патологии. Более активные превращения субстратов в одном из направлений этого цикла, вероятно, могут иметь приспособительное значение, например для включения запасных боковых (сопряженных) или периодически функционирующих метаболических реакций. Изменения активности данных ферментов при очаговом и инфильтративном туберкулезе легких свидетельствуют об относительном вребладании в гемолизатах эритроцитов активности Ф-1,6-ДФазы над активностью ФФК: отношение активности Ф-1,6-ДФазы к активности ФФК равно соответственно 2,86 и 3,25, в контроле — 1,71. Результатом описанных изменений в активности этих ферментов может быть большее образование фруктозо-6-фосфата с последующей активацией превращений субстратов в пентозы через трансальдолазные и транскетолазные реакции. Данное предположение иллюстрируется тем, что в эритроцитах больных очаговым и инфильтративным туберкулезом легких достоверно увеличивается синтез пентоз (табл. 2).

Достоверное повышение синтеза пентоз при диссеминированном туберкулезе нельзя объяснить этим механизмом. Для этой формы туберкулеза характерно повышение активности ФФК, что может привести к усилению образования 3-фосфоглицеринового альдегида через альдолазную реакцию. По-

средством этого субстрата через транскетолазную реакцию, входящую в группу рибозо-5-фосфатметаболизирующих, осуществляется связь гликолиза и ПФП. Высказанное предположение подтверждает и повышение активности Р-5-ФМФ в гемолизатах эритроцитов больных с этой формой туберкулеза легких (см. табл. 2).

Менее выраженный, хотя и достоверный, прирост пентоз определялся и в эритроцитах больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких. Недостаточное число обследованных не позволило получить существенных различий в активности изученных ферментов. Можно предполагать, что увеличение синтеза пентоз у этих больных происходит за счет следующих факторов: во-первых, за счет активации превращений фруктозо-6-фосфата через неокислительную ветвь ПФП, так как отношение активности Ф-1,6-ДФазы к активности ФФК выше, чем в контроле (как при очаговом и инфильтративном туберкулезе); во-вторых, за счет превращений 3-фосфоглицеринового альдегида в рибозо-5-фосфатметаболизирующих реакциях, поскольку имеется тенденция к повышению активности ФФК в гемолизатах эритроцитов (как при диссеминированном туберкулезе); в-третьих, за счет того, что активность Г-6-ФДГ у этих больных тяготеет к верхней границе нормы и возможно повышение образования пентоз через окислительные реакции ПФП. Окончательное установление точного механизма образования пентоз при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких требует дальнейших исследований.

Доля глюкозы, превращаемой через ПФП в эритроцитах, составила в контроле $7,83 \pm 0,863\%$, при очаговом туберкулезе — $13,9 \pm 1,69\%$ ($P < 0,01$), при инфильтративном — $13,2 \pm 1,71\%$ ($P < 0,01$), при диссеминированном — $13,3 \pm 2,50\%$ ($P < 0,05$). В то же время этот показатель для эритроцитов больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких существенно не отличался от контрольного ($9,8 \pm 1,77\%$, $P > 0,5$), хотя синтез пентоз (см. табл. 2) в эритроцитах этой группы больных был повышен.

У лиц с утратившими активность фиброзно-очаговыми туберкулезными

изменениями в легких доля глюкозы, превращаемой в эритроцитах через ПФП, соответствовала контрольному уровню.

Для сравнения отметим, что у больных с острой затяжной и хронической пневмонией в фазе обострения интенсивность ПФП обмена углеводов в эритроцитах оставалась на нижней границе нормы ($5,64 \pm 1,384\%$).

Таким образом, эритроциты больных туберкулезом легких потребляют столько же глюкозы, сколько и эритроциты здоровых лиц, но активнее синтезируют пентозы.

ЛИТЕРАТУРА

- Балябина М. Д., Усатенко М. С. — *Вопр. мед. химии*, 1968, № 4, с. 417—421.
 Захарьин Ю. Л. — *Лаб. дело*, 1967, № 6, с. 327—330.
 Каразе А. М., Колотилова А. И. — *Биохимия*, 1973, № 3, с. 515—519.
 Куликова А. И. — *Вопр. мед. химии*, 1966, № 2, с. 196—199.
 Чиркин А. А. — В кн.: *Вопросы лабораторной диагностики*. Минск, 1975, с. 229—230.
 Шатинскене Р.-М. Р., Колотилова А. И. —

- Там же, 1970, № 5, с. 491—498.
 Harper A. E., Young F. G. — *Biochem. J.*, 1959, v. 71, p. 696—701.
 Hildmann W., Zillmann K. — *Z. ges. inn. Med.*, 1966, Bd 21, S. 273—275.
 Hodges J. M., Grumer H.-D. — *Clin. Chem.*, 1973, v. 19, p. 330—337.
 Pontremoli S. et al. — *Proc. nat. Acad. Sci. (USA)*, 1973, v. 70, p. 303—305.
 Weber G., Cantero A. — *Cancer Res.*, 1959, v. 19, p. 763—768.

Получила 20.12.82

R. V. Romanovsky, A. A. Chirkin — GLUCOSE TRANSFORMATION IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

The intensity of glucose transformation by the pentose phosphate pathway (PPP) in intact erythrocytes was studied with the A. A. Chirkin modification of the S. Shonka method in 196 new cases of active pulmonary tuberculosis, 12 patients with inactive fibrofolocal tuberculous lesions in the lungs and 22 patients with acute persisting or chronic pneumonia at the phase of exacerbation. In addition the activity of the key

enzymes of glycolysis, gluconeogenesis and the PPP in the erythrocyte hemolysates was determined. The control group included 32 healthy persons. It was shown that the erythrocytes of the patients with pulmonary tuberculosis consumed the same amounts of glucose as those of the healthy persons. However, in the latter case the rate of pentose synthesis was higher.

УДК 616.233/24-002.5-085.458-036.8

Р. А. АГЗАМОВ, М. В. АБДУРАШИТОВА, Р. А. КАДЫРОВА, В. Ю. АУН

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЭРОЗОЛЬТЕРАПИИ БРОНХОЛЕГОЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

Узбекский НИИ туберкулеза им. акад. Ш. А. Алимова, Ташкент

Особенности морфологических изменений, характеризующих репаративные процессы при деструктивных формах туберкулеза легких, развивающиеся в результате антибактериальной терапии, достаточно изучены и освещены в литературе (Р. А. Агзамов, 1968, 1969; В. И. Пузик и соавт.; А. И. Струков и И. П. Соловьева; В. П. Новоселова, и др.).

В литературе имеются единичные

сообщения о влиянии ингаляционного введения туберкулостатических средств на состояние репаративных процессов в легочной ткани (А. Л. Брант и соавт.), которые, однако, не дают полного представления по данному вопросу.

В результате совершенствования ингаляционной техники были созданы ультразвуковые ингаляционные аппараты, которые имеют большие преимущества перед пневматическими.