

УДК 616.153.454-006-036.1: 577.112.85

СОДЕРЖАНИЕ  $\alpha$ -1 КИСЛОГО ГЛИКОПРОТЕИНА И СИАЛОВЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

А.С. Маслак, О.В. Костюк, И.В. Машейко, А.З. Бразалук

ГУ "Днепропетровская медицинская академия", Днепропетровск, Украина

Целью работы было исследование концентрации общих сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в крови и моче в группах больных с эритремией и сублейкемическим миелозом. Содержание  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в сыворотке и моче определяли методом иммунодота, а уровень сиаловых кислот - с помощью "СиалоТест" (НПЦ Эко-Сервис, Россия). В работе показано повышение уровня сиаловых кислот в сыворотке на  $42,6 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $41,5 \pm 0,6\%$  ( $p < 0,05$ ), при эритремии и сублейкемическом миелозе, соответственно. В моче при данных патологиях концентрация сиаловых кислот возрастает почти в 2 раза ( $p < 0,001$ ). Уровень  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина при эритремии снижается на  $32,3 \pm 0,6\%$  в плазме крови и на  $31,4 \pm 0,5\%$  ( $p < 0,05$ ) в моче, и напротив, не отличается от нормы при сублейкемическом миелозе. Полученные данные могут быть использованы с целью раннего выявления и для проведения дифференциальной диагностики хронических миелолейкозов.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -1 кислый гликопротеин, сиаловые кислоты, эритремия, сублейкемический миелоз.

**Введение**

К группе хронических миелопротеративных заболеваний, генетически обусловленных нарушением процессов кроветворения, относят эритремию и сублейкемический миелоз. Истинная полицитемия (эритремия) характеризуется медленным прогрессирующим течением на протяжении нескольких лет, со склонностью к трансформации в более агрессивные формы миелолейкоза (сублейкемический миелоз). Вследствие этого, перед врачами-гематологами часто стоит задача поиска специализированных групп маркеров, изменение в содержании или соотношении которых поможет выявлять на ранних стадиях, а также проводить дифференциальную диагностику хронических миелолейкозов.

$\alpha$ -1 кислый гликопротеин - белок острой фазы, концентрация которого изменяется при многих воспалительных и опухолевых заболеваниях [3]. Поскольку большая часть его молекулы представлена углеводным компонентом, так называемой гликановой частью, то изменение её структуры при различных заболеваниях часто приводит к появлению у данного гликопротеина новых свойств [1]. Важнейшими составляющими гликанов  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина является наличие концевых N-ацетилнейраминных остатков - сиаловых кислот. Повышенная сиалированность углеводных цепей способствует маскировке гликановых антигенных детерминант при онкологических процессах [13, 14]. Уменьшение количества концевых N-ацетилнейраминных остатков обуславливает появление свободных сиаловых кислот в крови. В норме, как правило, в свободном виде сиаловые кислоты встречаются в незначительном количестве [2]. Общий уровень сиаловых кислот является суммой двух фракций: связанных с гликоконъюгатами и свободно циркулирующих в кровотоке, его определение даёт полную информацию об активности процессов сиалирования и десилирования белков в организме [1]. Диагностическая ценность исследования данного параметра в различных биологических жидкостях, таких как кровь и моча, заключается в установлении характера биохимических изменений при определённом патологическом процессе. Целью работы было исследование изменения концентрации общих сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в крови и моче в группах больных с эритремией и сублейкемическим миелозом.

**Материалы и методы**

Материалом исследования служила сыворотка крови и моча в следующих группах: больных эритремией ( $n = 12$ ) в возрасте от 54 до 68 лет; больных сублейкемическим миелозом ( $n = 12$ ) в возрасте от 48 до 65 лет; здоровых волонтеров ( $n = 25$ ) в возрасте от 55 до 60 лет. Клиническое обследование пациентов проводили в соответствии со стандартами медицинской помощи в условиях специализированного стационара - гематологического отделения коммунального учреждения "Городская многопрофильная клиническая больница №4", г. Днепропетровск. Все обследуемые в письменном виде давали согласие на участие в исследовании.

Концентрацию  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в сыворотке и моче определяли методом иммунодота с использованием поликлональных кроличьих антител к  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина, соответственно. Полученные данные обрабатывали с помощью программы GelPro-Analyser.0.32.

Уровень сиаловых кислот определяли с помощью "СиалоТест" (НПЦ Эко-Сервис, Россия). В пробирки вносили по 1 мл гидролизующего реагента, по 2 мл дистиллированной воды и по 0,6 мл сыворотки. Содержимое пробирок тщательно перемешивали и ставили на водяную баню на 5 минут, после чего центрифугировали 6 минут при 3000 об/мин. Отбирали 2 мл супернатанта, добавляли 0,4 мл цветообразующего реагента, инкубировали на кипящей водяной бане в течение 15 минут, охлаждали в холодной воде, добавляли 2 мл дистиллированной воды и перемешивали. Измеряли оптическую плотность  $E_{\text{обр}}$  против дистиллированной воды. Содержание сиаловых кислот (С) рассчитывалось по формуле:  $C = E_{\text{обр}} * K$  моль/л. Анализ проводили на фотозлектроколориметре при длине волны 540 нм, кювету использовали с длиной оптического пути 10 мм. Перед промеркой образцов определяли коэффициент пересчета (К). Для этого на приборе измеряли оптическую плотность (Е) калибратора против дистиллированной воды. Рассчитывали коэффициент пересчета по формуле:  $K = 2/E$ , где 2 - концентрация сиаловых кислот в калибраторе, моль/л. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistics 6.0. Достоверность различий в группах исследуемых устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Уровень общих сиаловых кислот в сыворотке крови и моче в группе здоровых волонтеров составил  $637,48 \pm 123,7$  мг/л и  $575,25 \pm 98,22$  мг/л, соответственно. Полученные значения подтверждаются литературными источниками [11, 12]. Так, по мнению Sillanaukee P. и соавторов, количество свободных сиаловых кислот в моче у здорового человека составляет 50% от его общего уровня в сыворотке [9]. Полученное нами значение превышает эти показатели, поскольку мы определяли общее содержание сиаловых кислот, которое включает не только свободные, но и связанные сиаловые кислоты.

**Таблица 1** - Концентрация сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в биологических жидкостях.

Группа	Концентрация сиаловых кислот, мг/л		Концентрация $\alpha$ -1 кислого гликопротеина, мг/л	
	кровь	моча	кровь	моча
Здоровые волонтеры, n=25	$637,48 \pm 123,7$	$575,25 \pm 98,22$	$842,72 \pm 76$	$340 \pm 51$
Эритремия, n=25	$912,53 \pm 146,7^*$	$1163,27 \pm 159,8^{**}$	$618,81 \pm 71^*$	$265 \pm 81^*$
Сублейкемический миелоз, n=24	$903,84 \pm 134,6^*$	$1004,72 \pm 153,3^{**}$	$882,37 \pm 47$	$320 \pm 34$

\* - вероятная разница между выборками по сравнению с нормой при  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,001$ .

В группах больных миелопролиферативными заболеваниями уровень сиаловых кислот отличался от значений, полученных в группе здоровых волонтеров, но между патологическими группами значительной разницы не обнаружено (табл.1). Так, сывороточный уровень сиаловых кислот возрастал на  $42,6 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $41,5 \pm 0,6\%$  ( $p < 0,05$ ), при эритремии и сублейкемическом миелозе, соответственно. Концентрация сиаловых кислот в моче была почти в 2 раза ( $p < 0,001$ ) выше в обеих группах по сравнению с нормой. По литературным данным, содержание сиаловых кислот в сыворотке увеличивается при многих воспалительных процессах [8]. Так, недавние исследования показали, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний выше у населения с высоким содержанием сиаловых кислот [7]. Что касается онкозаболеваний, по мнению Chen S. и соавторов, увеличение уровня сиаловых кислот в крови при раке легких положительно коррелирует со степенью метастазирования данной опухоли [4, 5].

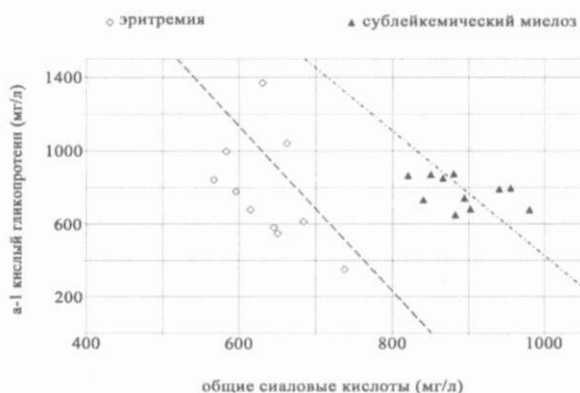


**Рисунок 1** - Концентрация сиаловых кислот (мг/л) в биологических жидкостях

Важным диагностическим критерием является количество сиаловых кислот в крови и моче. Так, при неврологических заболеваниях их уровень значительно снижается в моче [10], а при почечных заболеваниях наблюдается тенденция к увеличению уровня сиаловых кислот и в моче, и в сыворотке крови [14]. Нами были получены заслуживающие внимания данные при сравнении концентраций сиаловых кислот в биологических жидкостях для каждой из исследуемых групп (рис.1) (группа суб-

миелоза не представлена) Так, в норме процентное соотношение сиаловых кислот сыворотка крови/моча составляло 53/47, а при эритремии и сублейкемическом миелозе в среднем составило 44/56, что, возможно, связано с нарушением обмена веществ, в частности, с работой моче-половой системы при данных патологиях.

Исследования уровня  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина показали различия между двумя группами патологий: он снижался в сыворотке крови на  $32,3 \pm 0,6\%$  и в моче на  $31,4 \pm 0,5\%$  при эритремии и не отличался от нормы при сублейкемическом миелозе (см.табл.1).



**Рисунок 2** - Корреляция между уровнями общих сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина в сыворотке крови больных миелопролиферативными заболеваниями

Статистический анализ выявил отрицательную коррелятивную связь между уровнями сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина при эритремии  $r = -0,68$ ,  $p < 0,05$ , а при сублейкемическом миелозе  $r = -0,72$ ,  $p < 0,05$  (рис.2). В норме эти показатели коррелятивно связаны не были. Подобные закономерности были выведены Uslu и соавторами при исследовании больных с раком гортани. Они показали положительную корреляционную связь между уровнями связанных сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина на разных стадиях развития опухоли [10].

### Выводы

1. Содержание общих сиаловых кислот в сыворотке крови при эритремии и сублейкемическом миелозе незначительно отличается при данных патологиях и достоверно возрастает по сравнению с нормой.
2. Концентрация общих сиаловых кислот в моче при миелопролиферативных заболеваниях в 2 раза превышает значения, полученные в норме.
3. Показана отрицательная корреляционная связь между концентрацией сиаловых кислот и  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина при миелопролиферативных заболеваниях, которая отсутствует в норме.
4. Уровень  $\alpha$ -1 кислого гликопротеина снижен как в сыворотке крови, так и в моче больных эритремией, но находится в пределах нормы при сублейкемическом миелозе и может быть использован для дифференцировки данных заболеваний.

### Заключение

Сиаловые кислоты принимают значительное участие в метаболических процессах при канцерогенезе, поэтому определение их содержания в биологических жидкостях имеет важный диагностический и прогностический критерий при онкопатологиях. Нами впервые показано

