

# ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДИРОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОСНОВНЫХ ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ЛЕЙКЕМИИ

**Королик Е.В.<sup>1</sup>, Иванов А.А.<sup>1</sup>, Инсарова Н.И.<sup>1</sup>, Лещенко В.Г.<sup>1</sup>,  
Морозова О.М.<sup>2</sup>, Миланович Н.Ф.<sup>2</sup>, Усс А.Л.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский Государственный Медицинский Университет,  
Минск, Беларусь. Email: elena\_korolik@mail.ru*

<sup>2</sup>*Республиканский центр гематологии и трансплантации  
костного мозга, Минск, Беларусь*

Лейкоз – это заболевание, характеризующееся трансформацией определенных кроветворных клеток в злокачественные, неограниченное размножение которых приводит к замещению ими нормальных клеток костного мозга и очень высокому содержанию в крови измененных лейкоцитов. Лейкозы делятся на две основные группы – острые и хронические. В свою очередь острые лейкозы подразделяются на лимфобластный и миелобластный. Развитие ряда тяжелых заболеваний, в том числе и лейкоза, сопровождается образованием и накоплением в жидких средах организма разнообразных токсических субстанций. Наиболее адекватным и информативным подходом к диагностике эндогенной интоксикации является тестирование функционального состояния основных транспортных систем, осуществляющих сорбцию и перенос гидрофобных метаболитов и лекарственных препаратов в организме.

В настоящее время для оценки степени эндогенной интоксикации организма пациента по функциональному состоянию белков плазмы крови достаточно успешно используется метод флуоресцентного зондирования. Принцип этого метода заключается в оценке параметров связывания гидрофобных флуоресцентных зондов с транспортными белками [1]. К важнейшим транспортным системам крови человека относятся сывороточный альбумин (ЧСА), липопротеины (ЛП) и  $\alpha$ -1-кислый гликопротеин ( $\alpha$ -1-КГП). Метод флуоресцентного зондирования является одним из наиболее перспективных для изучения процесса функционирования белков плазмы крови в организме, для выяснения молекулярных механизмов патогенеза различных заболеваний, а также для использования его в качестве диагностического теста. Основное значение в связывании с белками плазмы крови играет заряд молекулы низкомолекулярных гидрофобных лигандов: анионные преимущественно сорбируются ЧСА, кати-

онные –  $\alpha$ -1-КГП, а незаряженные – распределяются между ЧСА и ЛП. Поэтому связывание низкомолекулярных гидрофобных токсинов и лекарственных препаратов белками крови можно анализировать с помощью набора флуоресцентных зондов с различными зарядами: анионный – 1-анилино-нафталин-8-сульфонат (АНС), катионный – Хинальдиновый красный (ХК), нейтральный – Нильский красный (НК).

Цель – применение метода флуоресцентного зондирования для оценки связывающей способности основных транспортных систем плазмы крови – сывороточного альбумина человека, липопротеинов,  $\alpha$ -1-кислого гликопротеина – больных с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) и хроническим миелолейкозом (ХМЛ), в комплекс лечебных мероприятий, в который включены высокодозная химиотерапия (ВХТ) и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

В работе была проанализирована плазма крови: 40-ка здоровых доноров, 30-ти пациентов с ОМЛ и 30-ти больных с ХМЛ. В качестве консерванта плазмы крови был использован гепарин. Методика проведения эксперимента подробно описана в работе [1].

В работе были проанализированы параметры связывания флуоресцентных зондов в плазме крови здоровых доноров (контрольная группа) и больных с ОМЛ и с ХМЛ. Для анализа полученных данных нами были использованы пиковые значения интенсивностей зондов АНС и ХК как показатель общей связывающей способности альбумина и  $\alpha$ -1-кислого гликопротеина, соответственно. В случае зонда НК, сольватохромные свойства которого делают его удобным для тестирования распределения нейтральных гидрофобных веществ между сывороточными липопротеинами и альбумином в нефракционированной плазме крови, был использован флуоресцентный параметр – отношение пиковой интенсивности липопротеин-связанного зонда НК ( $\lambda_{\max}=554$  нм) к альбумин-связанному зонду НК ( $\lambda_{\max}=592$  нм) –  $I_{554}/I_{592}$  [1].

На рисунке 1 представлены значения флуоресцентных параметров зондов АНС, ХК и НК в плазме крови больных с ОМЛ и с ХМЛ. Как видно из рисунка, наблюдается незначительное понижение связывающей способности альбумина по отношению к анионным лигандам (по данным зонда АНС) для больных с ХМЛ и практически не отличается от контрольной группы для пациентов с ОМЛ.

Отношение интенсивности флуоресценции липопротеин-связанного зонда НК к альбумин-связанному зонду НК, характеризующее связывающую способность липопротеинов и альбумина к нейтральным лигандам, показало, что для больных с ХМЛ не происходит перераспределение нейтральных гидрофобных метаболитов между липопротеинами и

альбумином по сравнению с контрольной группой. Исключение составляют больные с ОМЛ. Поскольку для этой группы больных концентрация альбумина ( $C_{\text{ЧСА}}$ , мг/мл) практически остается в норме (контрольная группа ( $n=40$ ) –  $C_{\text{ЧСА}}=46,8\pm 2,5$ ; ОМЛ ( $n=30$ ) –  $C_{\text{ЧСА}}=44,7\pm 2,0$ ; ХМЛ ( $n=30$ ) –  $C_{\text{ЧСА}}=42,9\pm 2,8$ ), то уменьшение значения  $I_{554}/I_{592}$  может быть вызвано как уменьшением концентрации липопротеинов (гиполипидемия), так и большой загруженностью липопротеинов нейтральными гидрофобными лигандами (в работе концентрация липопротеинов не определялась).

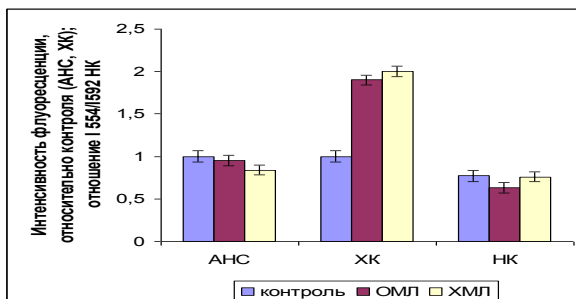


Рисунок 1 – Влияние различных форм лейкоза на флуоресцентные параметры зондов АНС, ХК и НК в плазме крови

Анализ спектров флуоресценции зонда ХК показал, что интенсивность флуоресценции этого зонда в плазме крови больных для ОМЛ и ХМЛ значительно возрастает по сравнению со здоровыми донорами. Это свидетельствует, по-видимому, о повышении концентрации  $\alpha$ -1-кислого гликопротеина в связи с наличием воспалительного процесса. Надо отметить, что гематологические больные характеризуются наличием глубокого иммунодефицита и вероятностью при этом высокого риска инфекционных заболеваний, что может привести к значительному увеличению концентрации  $\alpha$ -1-кислого гликопротеина, как белка острой фазы воспаления.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке БРФФИ.

### Литература

1. Оценка связывающей способности основных транспортных белков плазмы крови при циррозе печени методом флуоресцентного зондирования / Е.А. Короленко [и др.] // ЖПС – 2007. – № 4. – С. 507–511.