

## Биохимические показатели как критерии прогноза хронического лимфолейкоза

С.С. Дагбашян

Гематологический центр им. Р.О. Еоляна МЗ РА

375014, Ереван, ул. Г.Нерсисяна, 7

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, биомембраны, 5'-нуклеотидаза, фосфолипиды, Na/K-АТФаза, Mg-АТФаза

Несмотря на достижения в области разработок эффективных лечебных программ лимфопролиферативных заболеваний (ЛФПЗ) с применением различных химиотерапевтических препаратов, патологический процесс осложняется многообразием генетических нарушений, определяющих развитие и прогрессирование опухолевого процесса. Патогенетические механизмы этих нарушений до сих пор остаются невыясненными, в то время как сложившиеся на сегодняшний день представления не всегда предопределяют результат лечения [1, 4]. Среди причин этих осложнений выделяют также плохую изученность возрастных, расовых и половых различий при формально одинаковом диагнозе.

При выборе программы химиотерапии (ХТ) ЛФПЗ, как правило, руководствуются факторами прогноза по классификации Эни-Арбор. Число выделяемых прогностических факторов при этом неуклонно растет. В современных прогностических моделях их перечень включает не только результаты клинических, но и биохимических исследований. Суть вопроса сводится к тому, что в отсутствие факторов неблагоприятного прогноза назначается обычная ХТ, а при наличии таковых – применяют интенсивную ПХТ: высокодозную или мегадозную (миелоаблативную) с трансплантацией стволовых клеток.

Согласно литературным данным [1, 7], выделяют 5 основных клинических и лабораторных факторов, имеющих независимое прогностическое значение:

- активность ЛДГ в сыворотке крови,
- возраст больных ( $\leq 60$  или  $>60$  лет),
- стадия опухоли по классификации Эни-Арбор (I и II против III и IV),
- тяжесть состояния по 4-балльной шкале ( $\leq 1$  или  $\geq 2$ ),
- количество экстранодальных очагов опухолевого поражения ( $\leq 1$  против  $> 1$ ).

Поскольку прогностическое значение каждого из 5 признаков в ходе статистического анализа, как правило, оказывается близким, степень риска предлагается оценивать простым суммированием баллов.

Согласно современным представлениям (REAL, ВОЗ), ХЛЛ относится к заболеваниям периферических органов иммунной системы. Морфологическим субстратом ХЛЛ является клон CD5+ В-лимфоцитов (с иммунофенотипом CD5+, CD19+, CD20+, CD23+, слабой экспрессией CD22 и поверхностных иммуноглобулинов, FMC7-), аналогичный нормальным CD5+ В-лимфоцитам мантийной зоны вторичного фолликула лимфоузла, участвующим в независимом от Т-лимфоцитов иммунном ответе [1,4]. Работами последних лет показана также неблагоприятная прогностическая роль повышенного уровня тимидин киназы – клеточного фермента, активирующегося в клетке перед ее делением и осуществляющего фосфорилирование экзо- и эндогенного тимидина, ускоряя тем самым процесс построения ДНК. Тем самым уровень тимидин киназы может отражать активность клеточной пролиферации. Выявлено, если в группе больных ХЛЛ в начальной стадии заболевания в сыворотке крови определяется уровень тимидин киназы менее 7 ед./л, среднее время без признаков прогрессирования составляет 49 месяцев, в то время как в группе больных с более высоким уровнем фермента – только 8 месяцев.

Уже с середины 90-х годов стали появляться данные о неблагоприятной роли высокого уровня ЛДГ,  $\beta$ -2-микроглобулина и растворимой CD23 – активатора иммунных Т-лимфоцитов. Доказано, что при уровне ЛДГ, превышающем нормальный в 1,25 раза, медиана продолжительности жизни составляет 4,4 года, в то время как при нормальном уровне – 12,6 лет; при концентрации  $\beta$ -2-микроглобулина более 3 мг/л – 4,6 лет, менее – 12,6 лет; при уровне растворимой CD23, превышающем норму в 10 раз, выживаемость составила 6,4 года, при меньшем содержании – около 10 лет [1].

В поисках новых более информативных факторов прогноза ХЛЛ мы задались целью исследовать состояние некоторых компонентов и функциональной активности биомембран эритроцитов и лимфоцитов крови, ключевых ферментов – маркеров плазматических мембран.

## Материал и методы

Исследовались эритроциты и лимфоциты крови больных ХЛЛ в возрасте от 18 до 65 лет. Контролем служила кровь практически здоровых 22 доноров той же возрастной группы.

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методами тонкослойной хроматографии [6] в модификации Казаряна П.А. [2]. В каждой фракции определяли содержание неорганического фосфора [5].

Активность 5'-нуклеотидазы (5'-НТ) по [3] и Na/K-АТФазы рассчитывали по разнице между общей и Mg-АТФазной активностями. Общую АТФазную активность определяли в среде, содержащей 3мM АТФNa<sub>2</sub>, 50мM трис-НСl, 100мM NaCl, 20мM KCl и 5мM MgCl<sub>2</sub>. В среду для определения Mg-АТФазной активности, помимо этого, добавляли 0,1мM уабанин. Об АТФазной активности судили по приросту уровня неорганического фосфата в инкубационной среде.

Полученные данные обрабатывали статистически с учетом критерия достоверности Фишера-Стьюдента.

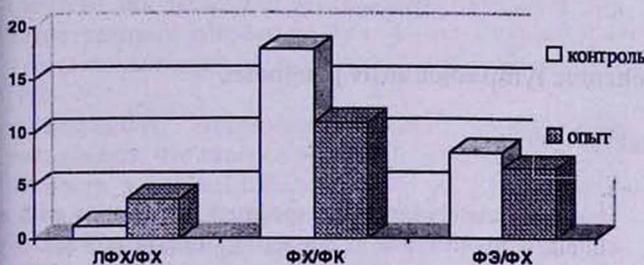


Рис. 1. Изменение коэффициентов ЛФХ/ФХ, ФХ/ФК и ФЭ/ФХ соотношений в эритроцитах крови при хроническом лимфолейкозе

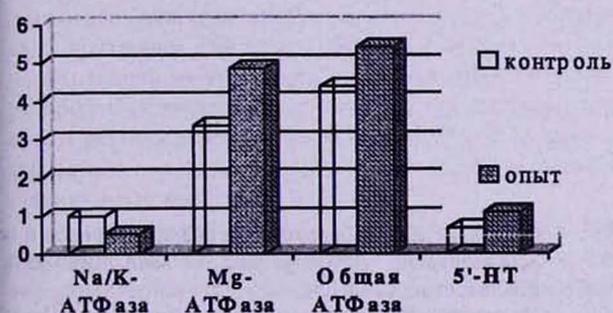


Рис. 3. Изменение активности маркерных ферментов в эритроцитах крови при хроническом лимфолейкозе

Структурные изменения биомембран привели к разнонаправленным сдвигам активности маркерных ферментов. Согласно полученным данным (рис.3,4), в условиях патологии наблюдается повышение активно-

## Результаты и обсуждение

Для оценки структурно-функциональной целостности мембран эритроцитов и лимфоцитов мы исследовали основные соотношения мембранных фосфолипидов: ЛФХ/ФХ, ФХ/ФК и ФЭ/ФХ, характеризующие соответственно состояние процессов распада и биосинтеза глицерофосфолипидов, а также микровязкость мембранных структур. В результате полученных данных выявлено (рис.1,2), что ХЛЛ характеризуется почти двукратным повышением коэффициента соотношения ЛФХ/ФХ как в эритроцитарных, так и лимфоцитарных мембранах. В этих условиях резко снижается коэффициент соотношения ФХ/ФК, что свидетельствует о преобладании в условиях патологии процессов распада над процессами синтеза. Нарушается также микровязкость бислоя, обусловленная снижением уровня ФЭ, более выраженная в мембранах лимфоцитов больных с ХЛЛ.

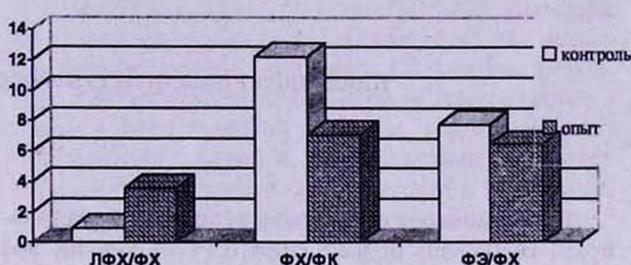


Рис. 2. Изменение коэффициентов ЛФХ/ФХ, ФХ/ФК и ФЭ/ФХ соотношений в лимфоцитах крови при хроническом лимфолейкозе

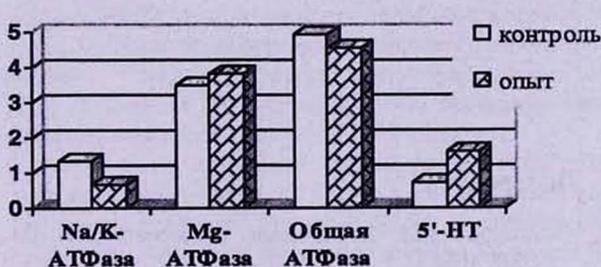


Рис. 4. Изменение активности маркерных ферментов в лимфоцитах крови при хроническом лимфолейкозе

сти 5'-НТ как в эритроцитах, так и лимфоцитах крови. Уровень Na/K-АТФазы снижается на фоне повышения Mg- и общей АТФазной активности.

Таким образом, изучение активности внутриклеточных энзимов, оценка показателей биоэнергетики клетки и состояния структурных компонентов мембран могут дать дополнительную информацию о

функциях иммунокомпетентных клеток при ХЛЛ, позволят уточнить отдельные звенья их патогенеза и разработать методы контроля за активностью патологического процесса.

Поступила 28.03.06

## Կենսաքիմիական ցուցանիշները որպես խրոնիկական լիմֆոլեյկոզի կանխորոշման միջոց

Ս.Ս. Դաղբաշյան

Ուսումնասիրվել են առանձին ֆոսֆոլիպիդների, նրանց հարաբերակցության, քաղանթային ինտեգրալ սպիտակուցների՝ ֆերմենտների /Na/K-ԱՄՖազ, Mg-ԱՄՖազ, 5'-նուկլեոտիդազ փոփոխությունների առանձնահատկությունները խրոնիկական լիմֆոլեյկոզով հիվանդների արյան էրիթրոցիտներում և լիմֆոցիտներում:

Հաստատված է, որ հիվանդությունն ուղեկցվում է

քաղանթային լիպիդների սպեկտրի և նրանց հարաբերակցությունը զգալի փոփոխություններով, Mg-ԱՄՖազի և 5'-նուկլեոտիդազի ակտիվության միաժամանակյա բարձրացմամբ և, ընդհակառակը, Na/K-ԱՄՖազի ճնշմամբ: Զննարկվում է իմունակոմպետենտ բջիջներում հետազոտվող ցուցանիշների որոշման ինֆորմատիվությունը խրոնիկական լիմֆոլեյկոզի ախտաճանաչման մեջ:

## Biochemical indices as criteria of chronic lympholeukosis prognosis

S. S. Daghbashyan

The peculiarities of alteration of individual phospholipids, coefficients of their ratios (LPC/PC, PC/PA and PE/PC), activities of integral membrane proteins-enzymes (Na/K-ATPase, Mg-ATPase, 5'-nucleotidase), erythrocytes and lymphocytes in blood of patients with chronic lympholeukosis have been investigated. A significant

change of membrane lipids spectrum, their ratios with a simultaneous increase in the activity of Mg-ATPase, 5'-nucleotidase, contrary to that, a decrease in Na/K-ATPase have been established. The importance of determination of the above mentioned indices of blood erythrocytes and lymphocytes in pathogenesis of CLL is discussed.

## Литература

1. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. М., 2001, 465с.
2. Казарян П.А., Элюян Д.В. Хроматографические методы (распределительная и адсорбционная хроматография). М., 1982, 40 с.
3. Нагиев Э.Р. Влияние ионизирующей радиации и физической нагрузки на активность 5'-нуклеотидазы печени крыс. Укр.биохим.журнал, 1995, т. 67, 6, с. 79-83.
4. Руководство по гематологии. / Под ред. Воробьева А.И., М., 1985, т.1.
5. Светашев В.И. Микротехника анализа липидов и ее использование. Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Владивосток, 1973, 25с.
6. Хроматография в тонких слоях. / Под ред. Э.Штала, М., 1965, 506 с.
7. Bennet J.M., Catovsky D., Daniel M.T. Proposals for classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukemias, J. Clin. Pathol., 1989, 42, p.198-206.