

## **Терапевтический лекарственный мониторинг при онкоурологических заболеваниях**

*Е.А. Мурашко*

Научные руководители: *проф., д.х.н. А. А. Карцова, к.х.н. А.А. Сидорова*

Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет

Развитие науки и расширение знаний о живых системах определяют новые и все более сложные задачи медицинской диагностики и терапии. Неотъемлемой частью биомедицинских исследований является терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ). Это направление включает в себя индивидуальный подбор, определение, контроль и корреляцию концентраций биологически активных соединений в месте их действия.

На сегодняшний день ТЛМ активно используется в практике лечения онкологических заболеваний. Так в странах западной Европы и США в настоящее время запрещено назначать сильнодействующие лекарственные препараты без контроля их концентрации в крови пациента.

Рак мочевого пузыря и предстательной железы – одни из самых распространенных онкологических заболеваний. Так, рак предстательной железы (РПЖ) в России является наиболее частой опухолью, после рака кожи. Рак мочевого пузыря (РМП) составляет около 2 - 2,5% в структуре всех онкологических заболеваний. На его долю приходится около 35% от всех новообразований мочеполовой системы.

Основным методом лечения РПЖ и РМП – является оперативный. Но, несмотря на постоянное совершенствование оперативной техники и применение обширных оперативных вмешательств, результаты только хирургического лечения пациентов с онкоурологическими заболеваниями остаются неудовлетворительными. При поверхностном раке мочевого пузыря в среднем у 60 - 70% больных наблюдаются рецидивы заболевания, а у 10-15% - прогрессия опухоли. Смертность после цистэктомии из-за образования метастазов составляет от 40 до 80%. В связи с этим широкое применение получает химиотерапия – как метод, позволяющий в значительной степени улучшить результаты оперативного вмешательства. Стремление в лечении онкологических заболеваний к индивидуализации и большое количество побочных эффектов противоопухолевых лекарственных препаратов обязывают вводить строгий контроль лекарственной терапии – ТЛМ.

Однако, для успешного решения задач количественного анализа лекарственных соединений при ТЛМ необходимо применение специфических валидированных методик и технологий, знание новых физико-химических подходов к пробоподготовке биологических объектов и наличие современного аналитического оборудования. Весь процесс проведения фармакокинетических исследований предполагает участие различных специалистов: врачей, биохимиков, химиков-аналитиков.

В связи с этим актуальной задачей современной клинической биохимии для исследований ТЛМ является разработка и валидация новых высокочувствительных и селективных методик определения концентраций лекарственных препаратов в биологических объектах (кровь, моча, амниотическая жидкость, спинномозговая жидкость, ткани).

Наиболее перспективным для проведения ТЛМ является аналитический метод хромато-масс-спектрометрии. Его преимущества – это высокая чувствительность и точность определения, огромная универсальность применения (возможность исследования более 95% всех лекарственных средств, используемых в современной фармакотерапии), достаточно большая экспрессность, возможность быстрого переключения с определения одного препарата на другой (при условии наличия методик).

Наша группа занимается исследованиями ТЛМ и разработкой валидированных методик определения противоопухолевых (митомидин С, винбластин, доцетаксел,

цисплатин, доксорубин) и противовоспалительных (оксибутинин, маркаин) антибиотиков, применяющихся при лечении различных онкоурологических заболеваний.

К настоящему времени разработаны и оптимизированы условия хромато-масс-спектрометрического определения митомицина С, препарата, широко используемого для лечения рака мочевого пузыря, и винбластин, применяющегося в химиотерапии рака предстательной железы. Разработаны процедуры пробоподготовки биологических объектов, включающие осаждение белков, гомогенизацию тканей, твердофазную экстракцию этих лекарственных соединений. Полученные данные позволили разработать и валидировать методику хромато-масс-спектрометрического определения митомицина С и винбластин в крови и тканях на уровне терапевтических концентраций. Результаты уже используются для проведения ТЛМ при внутриволостной химиотерапии.

### **Фибринолиз как источник аминокислот**

*Д.С. Лунан, В.А. Богова, О.А. Кушелева*

Научный руководитель: *д.м.н., зав. лаб. биохимического мониторинга Т.Ф. Субботина*

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, отдел биохимии НИЦ

Плазмин – главный фермент системы фибринолиза - является сериновой малоспецифичной эндопротеиназой. Однако в ходе фибринолиза могут активироваться также и экзопропротеиназы, например, активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (ТАИФ), или карбоксипептидаза U. ТАИФ замедляет фибринолиз путем отщепления С-концевых остатков лизина и аргинина, тем самым лишая плазмин дополнительных участков связывания.

**Цель** работы - разработка методики определения ассоциированной с фибринолизом карбоксипептидазной активности с использованием естественного субстрата – фибрина - и определением продуктов реакции - основных аминокислот лизина и аргинина, - в среде, максимально приближенной к условиям *in vivo*.

**Методы.** Коагуляцию и последующий фибринолиз инициировали добавлением стандартных количеств тромбина и тканевого активатора плазминогена. Параметры фибринолиза оценивали турбидиметрически. Нарастание количеств аргинина и лизина после завершения фибринолиза проводили на хроматографе Agilent в соответствии с рекомендациями фирмы Agilent Technologies. Параллельно в тех же пробах определяли концентрацию аргинина одной из модификаций метода Сакагучи.

**Результаты.** После завершения цикла коагуляции/фибринолиза отмечается достоверное увеличение концентраций аргинина и лизина в инкубационной среде. Это возрастание регистрируется не только с помощью ВЭЖХ анализа, но и более простой реакцией Сакагучи, причем результаты этих методов достоверно коррелируют между собой ( $r_s=0,697$ ;  $p<0,05$ ). Увеличение концентраций аминокислот после фибринолиза весьма значительно: по данным ВЭЖХ анализа оно составляет 114 и 87% для аргинина и лизина, соответственно. Определение аргинина методом Сакагучи также выявляет достоверный прирост – 79%. Из параметров фибринолиза, оцениваемых турбидиметрическим методом, достоверные корреляционные связи с приростом основных аминокислот обнаруживаются только для показателя длительности лаг-периода фибринолиза:  $r_s=-0,733$  и  $-0,761$  для аргинина и лизина ( $p < 0,05$ ). Эти связи отрицательные; иными словами, чем быстрее запускается процесс фибринолиза, тем выше регистрируемая экзопептидазная активность.

**Выводы.** 1. С фибринолизом ассоциировано освобождение значительных количеств основных аминокислот – аргинина и лизина. Выраженность этого явления

достоверно коррелирует с эффективностью начальной фазы фибринолиза. Таким образом, короткое плато на кривой оптической плотности в сочетании с выраженным возрастанием концентрации основных аминокислот можно считать достоверным маркером активации фибринолиза, а разработанный нами метод – пригодным для дальнейшего использования.

2. Возникающая в ходе фибринолиза карбоксипептидазная активность может иметь положительное значение, обеспечивая местную поставку незаменимых аминокислот, источником которых является деградирующий фибриновый сгусток.

### **Аминокислотный спектр плазмы крови у пациентов с острым миелобластным лейкозом**

*О.В. Станевич, М.А. Кучер*

Научный руководитель: *д.м.н., зав. лаб. биохимического мониторинга Т.Ф. Субботина*

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, отдел биохимии НИЦ

Нутритивная поддержка является важной составляющей успешной терапии онкогематологических заболеваний. Вместе с тем ощущается недостаточность общепринятых подходов к объективной оценке нутритивного статуса пациентов. Антропометрические данные и рутинные биохимические анализы не являются достаточно надежными критериями.

**Цель.** Усовершенствование аминокислотного анализа для общей оценки белково-энергетического обмена и частной оценки потребности в отдельных аминокислотах у пациентов, нуждающихся в нутритивной поддержке.

**Методы.** 9 пациентов с острым миелобластным лейкозом (из них все взрослые, 8 – женщины) были обследованы дважды: при поступлении в клинику и после недельного курса кондиционирования для последующей трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. У двоих больных диагностирована ремиссия, а у остальных – прогрессия основного заболевания. Плазму получали из венозной крови, взятой натощак. Анализ аминокислот проводили с помощью ВЭЖХ по модифицированной методике Agilent. Результаты сопоставляли с данными рутинных лабораторных анализов и общепринятыми методами оценки нутритивного статуса.

**Результаты.** Аминокислотный анализ проводили, в отличие от прототипа, с использованием норвалина в качестве внутреннего стандарта, что позволило повысить точность анализа. Исходный аминокислотный профиль пациентов характеризовался достоверным и существенным снижением концентраций большинства аминокислот, за исключением глутамата и гомоцистеина, концентрации которых были достоверно выше в сравнении с показателями здоровых лиц. Избыток гомоцистеина указывает на недостаток витамина В6, В12 и фолиевой кислоты; эта аминокислота повышается и в связи с применением антагонистов фолиевой кислоты метотрексата и селл-септа для профилактики РТПХ. Пониженный серин также мог обусловить недостаточную утилизацию гомоцистеина путем реметилирования, а недостаток свободного цистеина указывает на неэффективность утилизации гомоцистеина путем транссульфирования. Недостаток аминокислот, участвующих в транспорте аммиака и орнитиновом цикле (глутамин, аланин, аргинин, цитруллин) в сочетании с дефицитом всех аминокислот с разветвленной цепью (АКРЦ - валин, лейцин, изолейцин) указывает на низкую скорость метаболизма аминокислот. Достоверная положительная корреляция концентраций аргинина и глицина с показателями общего белка ( $rS=0,83$  и  $0,70$ ) и альбумина ( $rS=0,82$  и  $0,67$ ) свидетельствует о том, что дефицит этих аминокислот является лимитирующим звеном в биосинтезе белка. Сопоставление отношений глицин/АКРЦ и аланин/АКРЦ ( $1,09\pm 0,32$  и  $0,64\pm 0,10$ )

соответственно) позволяет расценить нутритивный статус пациентов как умеренно выраженную изокалорическую белковую недостаточность. После кондиционирования достоверных изменений нутритивного статуса по данным аминокислотного анализа не отмечено, однако появившиеся достоверные корреляции глутамина, аргинина, цитруллина, аланина и некоторых других аминокислот между собой и с уровнем мочевины указывают на активизацию катаболизма аминокислот.

**Выводы.** Взвешенная оценка аминокислотного статуса по отношению к показателям содержания белка и мочевины позволяет определять достижение целей при нутритивной поддержке.

## **Метаболомные маркеры возрастной митохондриальной дисфункции у пожилых лиц**

*Е.Г. Маевская*

Научные руководители: *проф., д.м.н., зав. отд. биохимии НИЦ А.А. Жлоба,*  
*доц. каф. неврологии, д.м.н. В. В. Никитина*

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
отдел биохимии НИЦ

**Введение.** В отличие от первичной митохондриальной дисфункции (ПМД), возрастная митохондриальная дисфункция (ВМД) в меньшей степени связана с энзимопатиями за счет мутаций. У взрослых ВМД сопровождается нарушением ферментативных реакций с участием витаминов В12, В9, В1, В6, а также липоевой кислоты и карнитина, проявляющихся органическими (амино)ацидопатиями. Среди причин этого состояния возможны нехватка в клетках кофермента.

**Целью** исследования являлось изучение системных метаболических критериев ВМД и изменений в спектре аминокислотного пула плазмы крови у лиц пожилого возраста.

**В исследование взята** плазма крови от лиц обоего пола с возрастом  $69,8 \pm 3,2$  лет с признаками В12 дефицита. Уровни витамина В12 и фолиевой кислоты определялись методом ИФА анализа. Методами ВЭЖХ- анализа исследовали ММК, янтарную кислоту, спектр аминокислот, общий гомоцистеин (оГци).

**Результаты.** Уровень витамина В12 ( $248,5 \pm 31,8$  пМ) плазмы крови у всех обследованных был в пределах нормы. При этом количество ММК было повышенным ( $2,5 \pm 0,8$  мкМ), что свидетельствовало о митохондриальном дефиците В12 –зависимых коферментных функций. Содержание оГци в изученных образцах колебалось от 10,4 мкМ до 46,7 мкМ, с проявлением ГГЦ умеренной степени тяжести у большинства обследованных при соответствующей нехватке фолатов ( $8,9 \pm 0,5$  нМ) в плазме крови. Уровень метионина был повышен и в среднем составлял  $59,9 \pm 11,7$  мкМ, при снижении уровней валина  $191,3 \pm 14$ , и изолейцина ( $48,7 \pm 7$  мкМ). Пониженное в целом содержание фолиевой кислоты ( $8,9 \pm 0,5$  нМ) в парном сравнении отрицательно коррелировало с уровнями валина и глицина. Содержание же витамина В12 отрицательно коррелировало с уровнями метионина, фенилаланина и тирозина.

**Выводы.** Метилмалоновая ацидемия в группе старше 65 лет свидетельствует ВМД, развивающейся при дефиците некоторых важнейших источников сукцината. При ММА в изученной группе, в отличие от этой ацидемии у взрослых, при нормальном содержании витамина в пуле аминокислот плазмы крови обнаружено пониженное содержание валина и изолейцина. Обычно у взрослых с изолированной мальабсорбцией витамина В12, наблюдается повышенное содержание разветвленных аминокислот - источников сукцината. По-видимому, ВМД в старшей возрастной группе в большей степени зависит от снижения экспрессии ферментов анаплеротического пути пополнения сукцината. В связи со сделанным нами выводом, коррекция ММА у лиц старшей возрастной группы

помимо применения повышенных доз вводимого витамина В12, необходима нутритивная поддержка нарушенного баланса аминокислот.

## **Хроматографическое и электрофоретическое определение стероидов в биологических жидкостях**

*Е.А. Бессонова, Е.Г. Стрельникова*

Научный руководитель: *проф., д.х.н. А.А. Карцова*

Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет

Разработка метода определения стероидов в биологических объектах (плазма и сыворотка крови, моча) является чрезвычайно важной задачей при диагностике различных эндокринных заболеваний на ранних стадиях развития. Колебание концентраций этих анализов отражает целый ряд патологических состояний в организме человека.

Низкие концентрации стероидных гормонов (на уровне нг/мл) в биологических объектах требуют высокочувствительного и селективного метода их определения.

Наряду с традиционными методами анализа биологически активных веществ (радио- и иммуноферментный анализ) значительные перспективы открываются в использовании для этой цели высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) и различных вариантов капиллярного электрофореза (КЭ).

Нами разработаны методики одновременного определения стероидов эндо- и экзогенного происхождения в биологических жидкостях методами обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ и мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) с УФ-детектированием с использованием добавок  $\beta$ -циклодекстрина и мочевины в состав подвижной фазы и рабочего буфера. Предложена стадия предварительной очистки и концентрирования пробы с использованием жидкостной и/или твердофазной экстракции. Предел обнаружения составил 2-5 нг/мл.

Метод КЭ отвечает требованиям, предъявляемым клинко-диагностическими лабораториями к анализу, таких как экспрессность, высокая эффективность, обеспечивая возможность разделения как ионных (белки, гликопротеины), так и нейтральных анализов (кортикостероиды). Однако для следового анализа биологически-активных веществ его использование ограничено из-за низкой УФ-концентрационной чувствительности определения.

Решение этой проблемы возможно с использованием различных вариантов *on-line* концентрирования. Полученные нами новые экспериментальные данные по *on-line* концентрированию и разработанное методическое обеспечение подготовки биологических проб для определения стероидов приводит к снижению пределов обнаружения анализов в сони раз. что обеспечивает использование электрофоретического определения биологически-активных веществ в целях медицинской диагностики.

Предложенный вариант хроматографического и электрофоретического определения кортикостероидов в биологических жидкостях нашло свое применение в практике клинической медицины в Санкт-Петербурге. Полученные стероидные профили сыворотки крови и мочи больных с эндокринными нарушениями (врожденная гиперплазия коры надпочечников; синдром Иценко-Кушинга, альдостерома, рак коры надпочечников) являются характеристичными для данных заболеваний и позволяют проводить диагностику на ранних стадиях.

## **Лактат и пируват плазмы венозной крови, как показатели вторичных митохондриальных дисфункций у лиц старшей возрастной группы**

*Сыровнев В.А.*

Научные руководители: доц. каф. неврологии, д.м.н. В. В. Никитина, к.б.н., ст. н.с. Л. А. Александрова

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, отдел биохимии НИЦ

**Введение:** При постановке диагноза и более точного выявления причин болезни и возможного её развития необходимо опираться не только на единичные анализы отдельных реакций, но делать более глубокий и широкий обзор нарушений и связывать их между собой.

Анализ концентраций лактата и пирувата в плазме и их соотношений наиболее точно отображает митохондриальные дисфункции, т.к. сама реакция сдвинута в сторону образования пирувата, но при недостатке кислорода при гликолизе происходит накопление лактата, за счёт невозможности утилизировать всю ПВК.

**Цель:** Таким образом, цель данной работы расширить и углубить анализ митохондриальных дисфункций у лиц старшей возрастной группы, путём соотнесения полученных данных по лактату и пирувату между собой и с супероксид дисмутазой на фоне клинических симптомов.

**Материал и методы:** В настоящее исследование были включены данные от N пациентов страдающих неврологическими и сердечно-сосудистыми заболеваниями на фоне митохондриальных дисфункций. Диагнозы заболеваний у пациентов были верифицированы клинически и с помощью инструментальных методов исследования. Уровни лактата и пирувата определяли в фильтрате плазмы крови с помощью спектрофотометрического метода. Тест на лактат, с инновационной пробоподготовкой, обладает рядом преимуществ, устраняя возможность потерь аналита. Кроме того, он более прост, требует значительно меньшего количества реагентов и времени для выполнения. Осуществление теста на лактат в плазме крови вместе с пробоподготовкой затрачивается 30-40 минут, вместо 3 часов. Это делает методику удобной для реализации в клинко-диагностических лабораториях с использованием биохимического анализатора. Оптимальное время для анализа лактата составляет 10 мин., этот промежуток включает фазу линейного изменения скорости реакции.

**Результаты и выводы:** Регистрировалась тенденция к умеренному повышению уровня лактата до  $0,88 \pm 0,37$  ммоль/л. Повышение уровня лактата в покое у пациентов может расцениваться в качестве системного проявления вторичной митохондриальной дисфункции. Стойкое увеличение которой сопровождалось также в некоторых случаях повышением уровня пирувата. Выявлена корреляция между повышением уровня лактата и СОД с  $p < 0.05$  (N=11) При лактат ацидозе повышаются уровень оксидативного стресса, что проявляется в СОД-активности. Показатель СОД-активности в плазме крови может входить в комплекс диагностики митохондриальных дисфункций.

## **Исследование процесса формирования кристаллов в биологических жидкостях**

*М.В. Ременникова, К.О. Поносова*

Научный руководитель: *проф. В.А. Тарлыков*  
СПбГУИТМО

Современные методы диагностики используют отдельные показатели биологических жидкостей состояния организма, вместе с тем большой интерес представляет информация о качественных взаимосвязях между множеством веществ находящихся в цельной биологической жидкости при кристаллизации.

Для разработки нового метода проводили исследования образования кристаллов с последующим анализом кристаллограммы плазмы крови. Из образца крови после естественного оседания форменных элементов, отбирали плазму и наносили каплю на лабораторное стекло. После высыхания капля просматривалась под микроскопом и ее изображение исследовалось на компьютере. Вид рисунка зависел от взаимосвязей веществ в растворе. Неизменным оставалось разделение на зоны: внешняя зона по краям капли – зона кристаллизации белка, центральная зона – зона кристаллизации соли. Между двумя основными зонами находится промежуточная зона белково-солевого геля. Такое разделение веществ в высохшей капле происходит за счет внутренних сил. Для выявления характера структуры кристаллограммы при изменении взаимосвязей в веществе, можно использовать воздействие внешних сил, например, светового воздействия.

Таким образом, изображение высохшей капли плазмы крови позволяет получить информацию о структурном взаимодействии компонентов плазмы, что может служить для дальнейшей разработки диагностических критериев состояния организма. Учитывая, что основным компонентом в плазме является вода, можно предположить, что взаимодействие воды с растворенными в ней веществами дает характерный рисунок. Предположительно, что таким образом можно определить нарушение в организме еще до его клинического проявления в виде симптомов заболевания.

## **Гомеостаз SH групп при острых воспалительных заболеваниях органов дыхания**

*Малоземова В.А.*

Научный руководитель: *зав. каф. внутренних болезней стоматологического факультета, д.м.н. И. А.Горбачева*

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, каф. внутренних болезней стоматологического факультета

**Введение:** Роль аминотиолов в механизмах свободнорадикального окисления (СРО), сопровождающего острые воспалительные заболевания, опосредуется участием в синтезе и обмене гомоцистеина с уменьшением его токсического действия на клетки. Таким образом SH группы составляют резерв антиоксидантной системы (АОС).

**Цель:** Оценка эффективности воспаления ресурса SH групп в крови у больных внебольничной пневмонией.

**Материалы:** Под наблюдением находилось 16 практически здоровых пациентов и 26 больных внебольничной пневмонией. Все больные были разделены на 3 подгруппы в зависимости от проводимой терапии: I-ая группа пациентов (9 чел.) получала тиосульфат натрия (NaTc), II-ая группа (9 чел.) -N-ацетилцистеин (АЦЦ), а пациенты III-й группы (сравнительной) (8 чел.) получали терапию без препаратов серы (Амброгексал).

**Методы:** Всем пациентам определяли уровни общих SH групп, SH групп низкомолекулярных и высокомолекулярных тиоловых соединений спектрофотометрическим методом с выделением SH групп низкомолекулярных тиолов путем фильтрования через фильтры Vivaspin.

**Результаты:** У всех больных до лечения отмечалось значительное снижение общих SH групп, снижение SH групп низкомолекулярных и высокомолекулярных тиолов по сравнению с нормальными значениями. Течение воспалительного процесса в легких сопровождалось закономерным истощением ресурса SH групп высокомолекулярных соединений, что отражает активность окислительной модификации субстратов в условиях окисленной среды. На фоне проводимой терапии у всех больных, получавших серосодержащие препараты, было отмечено сокращение сроков выздоровления на фоне повышения уровня общих SH групп за счет низкомолекулярной фракции, тогда как у пациентов, не получавших серосодержащие препараты, на фоне терапии не было выявлено клинических преимуществ и достоверных изменений в динамике всех показателей.

**Выводы:**

1. При остром воспалительном процессе отмечается снижение общих SH групп, с динамическим истощением запаса восстановленной серы в высокомолекулярных соединениях крови.
2. В процессе лечения серосодержащими препаратами происходит насыщение ресурса SH групп низкомолекулярных соединений, за счет которых восстанавливается депо АОС, что ведет к инактивации острого воспалительного процесса.
3. Серосодержащие препараты (Na<sub>2</sub>S, АЦЦ) являются средствами выбора в патогенетической терапии больных очаговой пневмонией.

### **Исследование агрегатов белка Тамма-Хорсвалла, выделенного из мочи здоровых людей и больных уролитиазом и пиелонефритом.**

*Е.В. Аплина*

Научные руководители: *асс. каф. клинической лабораторной диагностики, к.м.н. Ю.В. Эмануэль, с.н.с. Петербургского института ядерной физики РАН, к.б.н. С.Б. Ланда*

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,  
каф. клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины  
Санкт-Петербургский институт ядерной физики РАН

Из суточной мочи здоровых людей и пациентов с отсутствием патологии почек (15 человек), больных уролитиазом (15 человек) и пиелонефритом (4 человека) методом высаливания 0.58M NaCl и центрифугирования был выделен белок Тамма-Хорсвалла (БТХ). Осадок после центрифугирования растворяли в насыщенном CO<sub>2</sub> фосфатном буфере, для улучшения растворимости кристаллов солей и диализовали против дистиллированной воды в течение 12 часов. После диализа образцы очищали от альбумина и других сопутствующих белков методом гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-150. Качество очистки проверяли с помощью SDS электрофореза в полиакриламидном геле. Окраску гелей осуществляли коллоидным Кумасси G-250. исследование агрегатов БТХ проводили методом динамического светорассеяния на лазерном корреляционном спектрометре ЛКС-03.

Исследование образцов БТХ методом SDS электрофореза показало достаточно высокую степень очистки БТХ. В всех образцах присутствовала единственная характерная



полоса с молекулярным весом около 100 kDa, что хорошо согласуется с данными литературы [1].

Исследование образцов БТХ выделенных из мочи здоровых людей показало, что более 95 % БТХ в растворе составляют моодисперсные частицы с гидродинамическим радиусом  $102 \pm 12.4$  нм. При повышении ионной силы раствора эти частицы образуют мегамолекулярные комплексы с гидродинамическим радиусом от 500 до 2500 нм. При снижении ионной силы эти мегамолекулярные комплексы диссоциируют на к исходному состоянию.

Образцы БТХ, выделенные из мочи больных уролитиазом изначально существуют в виде мегамолекулярных комплексов размером от 1000 нм и более. Снижение ионной силы раствора не приводит к диссоциации данных комплексов.

БТХ, выделенный из мочи больных пиелонефритом отличается от такового у здоровых людей бимодальным распределением частиц с гидродинамическими радиусами  $98 \pm 14.3$  нм и  $184 \pm 24.6$  нм. Нами сделано предположение что более крупные частицы являются тетрамером частиц размером 98 нм. Формирование тетрамера может происходить за счет окисления SH групп как цистеина полипептидной цепи, так и полисахаридной части молекулы в процессе воспаления. Обработка образца БТХ из мочи больного острым пиелонефритом приводит к исчезновению частиц тетрамера.

Таким образом, белок Тамма-Хорсвалла может существовать в различных агрегатных формах. В норме агрегатная форма БТХ зависит от ионной силы окружающей биологической жидкости. При различных патологических процессах эти агрегатные формы могут становиться необратимыми.

### **Уровень экскретируемых продуктов NO-синтазной активности в виде высших окислов азота у больных бронхиальной астмой взрослых до 35 лет.**

*Н.М. Де Сильва*

Научные руководители: *д.м.н., проф. каф. госпитальной терапии В.И Немцов; д.м.н., проф. каф. патологической физиологии М.А. Меништина*

Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П.Павлова, каф. госпитальной терапии, каф. патологической физиологии

**Введение.** Течение бронхиальной астмы обусловлено ремоделированием бронхов, одним из проявлений которого является изменение васкуляризации слизистой оболочки. Микроциркуляторные нарушения тесно связаны с дисфункцией эндотелия, во многом обусловленной нитрозативным стрессом.

**Цель.** Установить роль нарушения NO-синтазной активности в развитии дисфункции эндотелия у больных бронхиальной астмы.

**Материалы и методы.** Обследовано 10 пациентов с бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести в стадии обострения в возрасте 16 - 35 лет. Проводилось помимо клинического минимума обследования выявление дисфункции эндотелия методом высокочастотной доплерографии, а также определение в плазме крови уровня гомоцистеина и его метаболитов, определение уровня нитратов и нитритов мочи.

**Результаты.** Дисфункция эндотелия выявлена у 100% пациентов исследуемой группы методом Допплера. Нарушение обмена гомоцистеина наблюдалось у 30% исследуемой группы. Повышение уровня экскретируемых нитратов и нитритов наблюдалось у 40% пациентов, коррелировало с тяжестью течения бронхиальной астмы, степенью бронхообструкции по ФВД; зависимость между уровнем гомоцистеина и

количеством экскретируемых высших окислов азота не выявлена. Достоверна корреляция степени вазоспазма и уровня нитратов мочи.

**Выводы.** У пациентов с аллергической бронхиальной астмой превалирует спастический тип микроциркуляции, избыток активных вазоконстрикторных механизмов. Повышение уровня экскретируемых нитратов и нитритов наблюдается у 40% пациентов, коррелирует с тяжестью течения бронхиальной астмы, степенью бронхообструкции по ФВД. Выявлена прямая зависимость степени вазоспазма и уровня нитратов мочи.