УДК: 616.155.191-021.3

Клінічне значення визначення вмісту 2,3-дифосфогліцеринової кислоти в еритроцитах хворих на справжню поліцитемію

С.М. Гайдукова, Ю.С. Бублій
Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

У статті наведено результати дослідження вмісту 2,3-дифосфогліцеринової кислоти (2,3-ДФГ) в еритроцитах крові у 32 хворих на справжню поліцитемію (СП). Визначено, що вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах хворих на СП збільшується пропорційно збільшенню рівня гемоглобіну. Обговорюється можлива роль 2,3-ДФГ у патогенезі порушень, що зумовлені дисциркуляторною гіпоксією.

***Ключові слова**: 2,3-ДФГ, метаболізм, справжня поліцитемія.*

Справжня поліцитемія (СП, еритремія) є однією з актуальних проблем сучасної медицини. У структурі всіх еритроцитозів питома вага СП є досить суттєвою [2, 4]. Як свідчать останні клінічні дослідження, проблема диференційної діагностики еритроцитозів є ще далекою від остаточного вирішення. Останнім часом з'явилися нові діагностичні критерії розмежування СП і симптоматичних еритроцитозів (СЕ), хоча і такі ознаки як «симптом твердої крові» та показники дослідження пунктатів кісткового мозку з підрахунком мієлограми не втратили свого значення [1, 3]. Особливо актуальною є проблема диференційної діагностики СП і СЕ в осіб похилого і старечого віку, адже саме в означеному віці можуть виникати і прогресувати соматичні захворювання, що супроводжуються СЕ, так і СП. Поєднання СП або СЕ з іншою патологією внутрішніх органів, з одного боку, призводить до виникнення синдрому взаємного обтяжування захворювань та більш важкого їхнього перебігу, а з іншого – ускладнює повноцінне лікування як захворювань внутрішніх органів, так і самої СП чи захворювання, що супроводжується СЕ. Необхідно враховувати, що і СЕ, і СП внаслідок наявності поліглобулічного синдрому завжди супроводжуються розвитком дисциркуляторної гіпоксії.

Наразі є невирішеним ряд аспектів патогенетичних механізмів метаболічних порушень, що супроводжують СП і СЕ [3–5]. У дослідженнях, які присвячені СП, основну увагу було спрямовано на вивчення особливостей змін гемопоезу, а роботи, в яких висвітлено стан вторинних метаболічних порушень при СП є поодинокими, з розрізненими фактичними даними і не відображують проблему в цілому.

Поза увагою дослідників залишилось вивчення універсального маркера гіпоксичних станів 2,3-дифосфогліцеринової кислоти (2,3-ДФГ) в еритроцитах периферійної крові. 2,3-ДФГ є однією з основних сполук, що забезпечують енергетичний обмін еритроцита та регулятором кисневотранспортної функції еритроцита. Існують зворотно пропорційні взаємозв'язки між вмістом 2,3-ДФГ та спорідненістю гемоглобіну до кисню та зворотна кореляція між концентрацією гемоглобіну і вмістом 2,3-ДФГ. Важливим внутрішньоклітинним механізмом адаптації за гіпоксичних станів є збільшення в еритроцитах вмісту 2,3-ДФГ. У науковій літературі немає даних стосовно визначення вмісту 2,3-ДФГ у хворих на СП, що і спонукало провести відповідні дослідження.

Мета дослідження: вивчити вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах хворих на СП, провести порівняльний аналіз з її рівнем у здорових осіб для можливості оцінювання та діагностики ступеня вторинних метаболічних порушень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У лабораторії аналізу біологічно активних речовин кафедри судової медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Київ) були обстежені 32 хворих (18 чоловіків і 14 жінок) з СП. Вік обстежених коливався від 32 до 79 років (середній вік 54,4±1,6 року). Усі хворі обстежувались до призначення будь-якого лікування після госпіталізації до стаціонару. Захворювання класифікували відповідно до Міжнародної статистичної класифікації хвороб 10 перегляду. Діагноз СП верифікували на підставі критеріїв, що рекомендовані ВООЗ (2008). На момент проведення обстеження у 12 хворих з СП діагностовано I стадію захворювання, на стадії IIA спостерігали 11 хворих, на стадії IIБ – 9. В 11 пацієнтів захворювання було виявлено вперше, в період обстеження (2012–2016 рр.) вони ще не отримували специфічної терапії. Решта (21 хворий) вже отримували специфічне лікування (гемоексфузії та/або хіміотерапію). Дослідження периферійної крові проводили з використанням автоматичного гематологічного аналізатора. Залежно від вираженості еритроцитозу хворих розподілили на три групи: помірний ступінь вираженості (еритроцитоз до $5{,}9\times10^{12}$/л) був у 19 хворих, середній (еритроцитоз до $6{,}5\times10^{12}$/л) – у 7, виражений (еритроцитоз понад $6{,}5\times10^{12}$/л) – у 6.

Стан кісткового мозку вивчали в гістологічних препаратах трепанобіоптатів, що отримували методом задньої трепанобіопсії здухвинної кістки. Біоптат довжиною до 2 см фіксували в рідині Карнуа, декальцинували в рідині де Кастро, зневоднювали проведенням через спирти зростаючої концентрації і заливали в парафін. Готували зрізи за допомогою мікротома, які забарвлювали гематоксиліном і еозином за методом Ван–Гізон, азур II-еозином обробляли за Малорі на наявність колагену та за Гоморі – для виявлення ретикулінових волокон.

Дослідження стану енергетичного обміну в еритроцитах периферійної крові в обстежених проводили за показниками вмісту в них 2,3-ДФГ, здійснювали неензиматичним методом за І.С. Луганової, М.Н. Бліновим (1975), в основі якого лежить визначення фосфатів у хлорнокислих екстрактах.

Контрольну групу склали 35 (20 чоловіків і 15 жінок) первинних донорів.

Таблиця 1

Вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові пацієнтів контрольної групи, M±m

Показник	Усього, n=35	Чоловіки, n=20	Жінки, n=15	p
2,3-ДФГ, мкмоль/г Hb	13,88±0,10	13,87±0,11	13,90±0,24	p>0,1

Примітка: p – достовірність різниці між показниками залежно від статі.

Таблиця 2

Вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові хворих на СП, M±m

Показник	Усього, n=32	Чоловіки, n=18	Жінки, n=14	p
2,3-ДФГ, мкмоль/г Hb	11,58±0,23	11,21±0,33	12,18±0,35	p_1>0,1 p_2<0,001

Примітка: p_1 – достовірність різниці між показниками у групі залежно від статі; p_2 – достовірність різниці у порівнянні із значеннями у пацієнтів контрольної групи.

Таблиця 3

Вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові хворих на СП залежно від вираженості еритроцитозу, M±m

Показник	Ступінь вираженості еритроцитозу при СП			p
	Помірний, n=19	Середній, n=7	Виражений, n=6	
2,3-ДФГ,мкмоль/г Hb	11,72±0,15	9,61±±0,16	6,89±0,13	p_1<0,01 p_2<0,001 p_3<0,001

Примітка: p_1 – достовірність різниці між показниками при помірному і середньому ступені; p_2 – достовірність різниці між показниками при помірному і середньому ступені; p_3 – достовірність різниці між показниками при помірному і виразному ступені еритроцитозу.

При статистичному обробленні отриманих результатів використовували методи варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента (t). Розрахунки проводили на персональному комп'ютері з використанням пакета статистичної обробки STATISTIKA 5.5.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дані визначення вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові обстежених осіб контрольної групи наведені у табл. 1.

Аналізуючи вміст 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові здорових осіб, відмітили слід зазначити, що індивідуальні коливання її вмісту були у чоловіків від 12,84 мкмоль/г Hb до 15,00 мкмоль/г Hb, а у жінок – від 12,85 мкмоль/г Hb до 15,01 мкмоль/г Hb. Достовірної різниці вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові пацієнтів контрольної групи залежно від статі та віку не виявлено (p>0,1).

Результати визначення вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові обстежених хворих на СП представлені у табл. 2.

Досліджуючи стан енергетичного обміну в еритроцитах хворих на СП за вмістом у них 2,3-ДФГ, зафіксовано, що індивідуальні коливання показника вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах у чоловіків були від 6,53 мкмоль/г Hb до 16,18 мкмоль/г Hb, а у жінок – від 6,86 мкмоль/г Hb до 15,44 мкмоль/г Hb. Було встановлено, що показник вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах крові хворих на СП був достовірно більшим за контрольні значення (p<0,001). Достовірної різниці вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові обстежених хворих залежно від статі та віку не виявлено (p>0,1). Означені особливості показника вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах крові хворих на СП можна пояснити ступенем тканинної гіпоксії у даної групи хворих, адже відомо, що показник вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові зростає зворотнопропорційно змінам в них показника концентрації гемоглобіну.

Дані щодо вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові хворих на СП залежно від ступеня вираженості еритроцитозу наведені у табл. 3.

Як видно з наведених у табл. 3 даних, показники вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах периферійної крові обстежених достовірно зменшувалися зі зростанням еритроцитозу у хворих на СП (p<0,001). У хворих на СП спостерігається достовірне розбалансування енергетичного обміну в еритроцитах периферійної крові, що проявлялось зменшенням вмісту в них 2,3-ДФГ. Цілком можливо, що виявлені зміни мають компенсаторно-пристосувальне значення до умов дисциркуляторної гіпоксії і відображають виснаження компенсаторно-пристосувальних механізмів її компенсації.

Основну кількість енергії еритроцит отримує саме із окислювально-відновних процесів циклу Ембдена–Мейергофа. Завдяки реакціям утворюється коензим, що відновлює метгемоглобін до гемоглобіну і синтезується 2,3-ДФГ – важливий модулятор спорідненості гемоглобіна до кисню. У гексозомонофосфатному циклі метаболізується близько 10% глюкози, що споживається еритроцитом. В умовах гіпоксії відбувається інтенсифікація гексозомонофосфатного циклу, що супроводжується накопиченням NADP·H. Цей коензим є необхідним для підтримання у відновленій формі глутатіона, який бере участь у реакціях спрямованих на захист еритроцита від перекисного ушкодження.

ВИСНОВКИ

1. Однією з ланок патофізіологічних змін метаболізму у хворих на СП є порушення енергетичного обміну в еритроцитах, що проявляється зменшенням вмісту в них 2,3-ДФГ.

2. Вірогідно, що показник вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах хворих на СП відображає ступінь тканинної гіпоксії, що виникає внаслідок поліглобулії та дисциркуляторних розладів.

3. Показник вмісту 2,3-ДФГ в еритроцитах хворих на СП зменшується пропорційно зростанню вираженості еритроцитозу в периферійній крові.

Определения содержания 2,3-дифосфоглицериновой кислоты у больных истинной полицитемией

С.Н. Гайдукова, Ю.С. Бублий

В статье представлены результаты исследования содержания 2,3-дифосфоглцериновой кислоты (2,3-ДФГ) в эритроцитах крови у 32 больных истинной полицитемией (ИП). Показано, что содержание 2,3-ДФГ в эритроцитах больных ИП уменьшается пропорционально увеличению уровня гемоглобина. Обсуждается возможная роль 2,3-ДФГ в патогенезе нарушений, которые обусловлены дисциркуляторной гипоксией.

Ключевые слова: *2,3-дифосфоглцериновая кислота, метаболизм, истинная полицитемия.*

The clinical significance of defining the level of a 2,3-diphosphoglicerin acid contents in erythrocytes of the patients with polycythemia vera

S.M. Gaidukova, J.S. Bublij

The article provides the results of a 2,3-diphosphoglicerin acid (2,3-DPGA) level in blood of 32 patients with polycythemia vera (PV). The 2,3-DPGA contents increase parallel to reduction of a hemoglobin level of patients with PV has been shown. The possible role of a 2,3-DPGA in formation of syndrome of metabolic intoxication is discussed.

Key words: *2,3-diphosphoglicerin acid, metabolism, polycythemia vera.*

Сведения об авторах

Гайдукова Светлана Николаевна – Кафедра гематологии и трансфузиологии Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 483-16-61

Бублий Юлия Станиславовна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gaidukova S.N., Sivak L.A. 2014. Peculiarities of bone marrow hemopoiesis at erythremic stage of polycytemia vera. Simejnaja medicina. 5: 62–63.
2. Gaidukova S., Tkachenko O., Bublij J. 2013. Erythrocytosis as a differential diagnostic problem in clinical practice. The Health of Society. 2; 2: 58–67.
3. Gaidukova S., Tkachenko O., Bublij J. 2016. Free heparin blood plasma of patients with polycythemia vera and incidence of neurological cerebral symptoms. Hematology. Transfusiology. Estern Europe. 2(1): 47–57.
4. Vojzizkij J.V., Viljashkevich G.B., Shevchenko L.V., Jurchishak I.M. 2015. Metodi diagnostiki Ph-negativnich mieloprolipherativnich sachvorjuvan (istinna policitemija, essencialna trombocytemia, pervinnij mielophibros. Gematologija i perelivanie krovi. 38: 363–364.
5. Vydyborets S., Kucher O., Sergienko O. 2013. The clinical significance in erythrocyte sedimentation rate index. The Health of Society. 2; 2: 85–92.

Статья поступила в редакцию 22.04.2016

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ СПРАВИЛАСЬ С НЕЙРОБЛАСТОМОЙ

Иммунотерапия против нейробластомы, разработанная специалистами из Детской больницы Святого Иуды (St. Jude Children's Research Hospital), была успешно испытана на 34 детях и подростках. У 13 пациентов, полностью прошедших рекомендованный курс, после окончания лечения отсутствовали какие-либо признаки заболевания.

Вэйн Фурман (Wayne Furman) отмечает, что это наиболее впечатляющие результаты, которые были получены при изучении способов борьбы с нейробластомой. Напомним, что это заболевание в основном поражает детей в возрасте до 5 лет. В том случае, если нейробластому удается обнаружить на ранних стадиях, то вероятность вылечиться достигает 90%. Для распространенной формы нейробластомы, а также опухолей, связанных с мутацией гена MYCN, прогноз менее благоприятный. Трехлетняя выживаемость в этом случае составляет 50-60%.

Детям не только вводили тестируемые антитела hu14.18K322A, также они проходили другое рекомендованное лечение - химиотерапию, облучение, хирургическое лечение и пересадку костного мозга. У 80% пациентов - размер опухолей сократился на 47-96%, а у остальных 20% опухолевый рост остановился. Среди тех, кто не получал антитела, а лишь проходил химиотерапию, уменьшение размера опухоли наблюдалось лишь у 40%. 13 участников исследования до сих пор проходят лечение, а двое, к сожалению, умерли.

Детям вводили антитела hu14.18K322A, способные распознавать антиген GD2, расположенный на поверхности большинства клеток нейробластомы. Кроме этого он присутствует на поверхности опухолевых клеток при меланоме, остеосаркоме и некоторых саркомах мягких тканей. GD2 в норме присутствует на поверхности клеток периферических нервов.

http://medportal.ru