

Учитывая вышеизложенное и наличие дефицита витамина Е, установленного другими авторами, детям с ДЦП или угрожаемым по ДЦП, по-видимому, необходимы длительная мембраностабилизирующая терапия, назначение антиоксидантов и эссенциальных фосфолипидов, в том числе как ловушек радикалов. Эта терапия в свою очередь будет способствовать сокращению числа детей с тяжелой формой ДЦП и остаточными явлениями перинатальных повреждений ЦНС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Ариашский И. А.* Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. — М., 1982.
2. *Банкова В. В., Шелковский В. И., Знаменская Е. И.* // Педиатрия. — 1987. — № 7. — С. 48—51.
3. *Бардахьян Э. А., Харланова Н. Г.* // Бюл. exper. биол. — 1992. — Т. 64, № 10. — С. 439—442.
4. *Береговская Н. Н.* // Нарушения биоэнергетики и в патологии и пути их восстановления. — М., 1993. — С. 11—20.
5. *Волчегорский И. А., Налимов А. Г., Яровинский Е. Г., Лифшиц Р. И.* // Вопр. мед. химии. — 1989. — Т. 35, № 1. — С. 127—131.
6. *Дмитриев Л. Ф.* Радикальные состояния и циклические превращения липидов в биологических мембранах: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1994.
7. *Дудник Л. В., Вискна Л. М., Мацоре А. Я.* // Вопр. мед. химии. — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 597—600.
8. *Леце А. Г., Кумерова А. О., Шекстес А. П.* и др. // Бюл. exper. биол. — 1999. — Т. 128, № 8. — С. 230—232.
9. *Лифшиц В. М., Сидельников В. И.* Биохимические анализы в клинике. — М., 1998.
10. *Лоскутова Л. В., Колосова Н. Г.* // Бюл. exper. биол. — 2000. — Т. 130, № 8. — С. 155—158.
11. *Прилипо Л. Л.* Роль процессов перекисного окисления липидов в повреждении мембранных структур мозга при

стрессе и гипероксии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1983.

12. *Шенелев А. П., Корниенко И. В., Шестопалов А. В.* и др. // Вопр. мед. химии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 110—116.
13. *Culter R. G.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1985. — Vol. 82, N 14. — С. 4798—4802.
14. *Gelinas S., Chapados C., Beaugregard M.* et al. // J. Biochem. Cell Biol. — 2000. — Vol. 78, N 6. — P. 667—674.
15. *Hoppel C. L.* // Biochemical Aspects of Human Disease / Eds R. S. Elkeles, A. S. Tavill. — Oxford, 1983. — P. 519—555.

Поступила 09.02.04

#### LIPID PEROXIDATION IN NEUROLOGICAL PATHOLOGY IN CHILDREN. *E.M. Vasilyeva, M.I. Bakanov, A.E. Poddubnaya, T.A. Shor*

The intensity of lipid peroxidation (LPO) was studied by the content of the listed below in erythrocytes of children with neurological pathology: diene conjugates, trienketones and LPO products. Intensified LPO processes were registered in children with neurology and primarily in those with cerebral spastic infantile paralysis (CSIP). The detected changes in the LPO products of erythrocyte membranes depended on a disease variation on an intellectual development of sick child. The LPO activation affects possibly the development (lesion) of craniocerebral innervation in patients. Changed LPO parameters were found in examined sick children to be most closely related with the development of their motor skills and with the formation of the bone-muscle system, thus, an essentially higher content of LPO products was registered in erythrocytes of children with a reduced muscular activity (in those not capable of sitting, standing or walking). Considering the above stated and with respect to the deficit of Vitamin E registered in such patients, children with CSIP or with impending CSIP need, obviously a prolonged membrane-stabilizing therapy by antioxidants and essential phospholipids including traps of radicals, which should cut the number of children with severe CSIP and with residual perinatal lesions of the central nervous system.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 616.153.96-073.432.1

Е. Н. Тамарова, В. А. Клемин, А. П. Ройтман, В. В. Долгов

#### АКУСТИЧЕСКОЕ (УЛЬТРАЗВУКОВОЕ) ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА И БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Российская медицинская академия последипломного образования, Москва; ЗАО "БИОМ", Нижний Новгород

На сегодняшний день возможны идентификация и количественное определение изменений многих индивидуальных белков крови, однако определение общего белка и белковых фракций по-прежнему актуально как ориентировочный (скрининговый) метод [1, 5].

Наиболее распространенным методом выявления диспротеинемий в практике клинико-диагностических лабораторий (КДЛ) является электрофоретическое фракционирование. В ряде лабораторий электрофорез белков сыворотки крови считают методом скрининга и исследуют все сыворотки крови, поступившие в лабораторию. В других процедуру электрофореза выполняют только на основании результатов исследования содержания в крови общего белка и альбумина или клинической картины. Метод электрофореза остается диагностически важным тестом [2—4]. Однако электрофоретические технологии связаны с применением агрессивных агентов, дорогостоящей аппаратуры и являются относительно трудоемкими.

Между тем многочисленные исследования показали, что современные ультразвуковые технологии являются объективными методами исследования некоторых количественных и качественных особенностей такой сложной биологической среды, какой является кровь [6—8]. При анализе литературы последних лет встречались сообщения о перспективности использования ультразвука для диагностики величины кровопотери у пострадавших при стихийных бедствиях, авариях, катастрофах и т. д., в анализаторах групп крови и для разрушения тромбов в сосудистой хирургии. Патологические процессы, сопровождающиеся изменениями относительного содержания белка, липидов и воды, приводят к изменению значений скорости и затухания ультразвука и их зависимостей от частоты. Но большинство методов, которые используются в молекулярной акустике для измерения ультразвуковых характеристик различных сред (импульсный, фазовый и др.), малоприменимы при исследованиях биологических тканей, так как требу-

ют использования больших объемов изучаемого материала.

В приборе "БИОМ-01М" (ЗАО "БИОМ", Нижний Новгород) применяется резонаторный метод или метод интерферометра фиксированной длины, основанный на использовании стоячих ультразвуковых волн в цилиндрическом резонаторе. Это позволяет определять скорость и затухание ультразвука в малых объемах образца по характеристикам резонансных пиков. Полученная информация запоминается в ЭВМ и благодаря оригинальной математической модели на выходе преобразуется в количественный результат. Концентрация общего белка в сыворотке крови определяется по формуле

$$C_{об} = \left(\frac{1}{A_{об}}\right) (\varphi_1 - \varphi_2),$$

где  $C_{об}$  — концентрация общего белка (в г/л);  $\varphi_1$  — относительное изменение скорости ультразвука в сыворотке крови относительно дистиллированной воды при помещении их в акустическую ячейку № 1;  $\varphi_2$  — то же при использовании ячейки № 2 прибора;  $A_{об}$  — концентрационный коэффициент относительной скорости ультразвука для общего белка.

Белковые фракции сыворотки крови — альбумин,  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины — определяются путем решения линейной системы уравнений относительно 5 неизвестных, в качестве которых рассматриваются указанные компоненты, а в качестве правых частей уравнений рассматриваются относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови в устройствах № 1 и 2 и относительные изменения скорости ультразвука в контрольных образцах № 1 и 2. В процессе разработки математической модели проводились исследования частотных и температурных зависимостей скорости и поглощения ультразвука в сыворотке крови в диапазоне частот 1—40 МГц при температуре 10—40°C.

Цель настоящей работы — анализ возможности определения концентрации общего белка и соотношения белковых фракций в сыворотке крови при помощи ультразвукового прибора "БИОМ-01М" для диагностики диспротеинемий.

Для решения задачи проводилось исследование белковых компонентов в различных материалах (сыворотке крови, контрольных материалах, сливной сыворотке) параллельно на приборе "БИОМ-01М" и на электрофоретической системе "Paragon" фирмы "Beckman" (США) с дальнейшей статистической обработкой.

**Материалы и методы.** Было исследовано более 150 сывороток больших (случайная выборка), представленных КДЛ (зав. В. И. Коровина) городской клинической больницы им. С. П. Боткина. При работе использовали контрольные материалы Serodos и Serodos plus ("Human", Германия), Normal Protein Electrophoresis Control ("Beckman", США), Abnormal Protein Electrophoresis Control ("Beckman", США), Lyphochek ("Bio-Rad", США), Randox (Великобритания), а также сливную сыворотку.

Все сыворотки исследовали с помощью акустического прибора "БИОМ-01М" (рис. 1), а также подвергли электрофоретическому разделению на

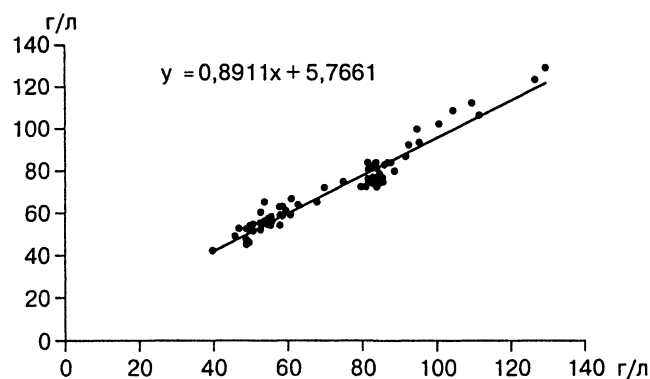


Рис. 1. Графическое представление о регрессионной зависимости значений концентрации общего белка, полученной двумя сравниваемыми методами.

По оси абсцисс — значения, полученные при определении традиционным биуретовым методом; по оси ординат — значения, полученные новым ультразвуковым методом, предложенным ЗАО "БИОМ".

системе "Paragon" ("Beckman", США) с дальнейшим денситометрированием на аппарате "Appraise" той же фирмы. Получена высокая степень корреляции ( $R = 0,97$ ) для выборки  $n = 80$  ( $n$  — количество проб). Статистическая значимость коэффициента корреляции проверялась по таблице распределения Стьюдента для числа степеней свободы  $f = 78$  и уровня значимости 5%.

Общий белок определяли в сыворотках биуретовым методом с использованием наборов VITAL DIAGNOSTICS (Санкт-Петербург) на биохимическом анализаторе "EOS-bravo" (Италия).

Акустический метод определения параметров белкового и липидного спектра сыворотки крови и анализатор биосред "БИОМ-01М" разработаны фирмой "БИОМ" под руководством канд. биол. наук В. А. Клемина. Разработан алгоритм определения концентрации компонентов белкового и липидного спектра сыворотки в акустической ячейке прибора. С биофизической точки зрения ультразвук определяет, видимо, так называемую "связанную воду". Молекулами, удерживающими вокруг себя воду, в сыворотке являются именно белки и липопротеины.

Процедура исследования достаточно проста и не требует высокой квалификации исполнителя. Необходимо лишь поместить 80 мкл сыворотки в

Таблица 1

Полученные значения для воспроизводимости по общему белку для прибора "БИОМ-01М"

Воспроизводимость	CV, полученный на сливной сыворотке	CV, полученный на контрольном материале (Serodos)	Норма аналитической точности для общего белка (приказ № 45 Минздрава РФ)
	CV <sub>10</sub> , %		
Внутрисерийная (сходимость)	0,23	0,26	1/2 CV <sub>10</sub> = 2,4
Аналитическая (день ото дня)	0,72	1,7	4,8

Примечание. Данные по воспроизводимости, определенные в соответствии с приказом № 45 Минздрава РФ от 07.02.2000, превышают требуемые.

Таблица 2

Сравнение полученных значений общего белка на изучаемом приборе с паспортом к контрольному материалу Serodos

Показатель	Содержание общего белка, г/л
Диапазон, указанный в паспорте к контрольному материалу	66,2 ± 6,0 (60,2—72,2)
Полученный разброс на "БИОМ-01М" ( $\bar{X} \pm 2S, n = 10$ )	71,2 ± 0,3 (67,7—72,3)

Примечание. Приведен диапазон значений  $\bar{X} \pm 2S$ , где  $\bar{X}$  — среднее значение,  $S$  — стандартное отклонение. Указанные в паспорте значения показателей являются методозависимыми. В данном случае диапазон указан для биуретового метода определения общего белка в сыворотке. Именно с этим методом проводилось сравнение. Высокая степень корреляции позволяет использовать эти значения рекомендуемого диапазона для акустического метода, лежащего в основе работы "БИОМ-01М".

две термостатируемые ячейки прибора и нажать соответствующие кнопки на панели для запуска программы. Для ультразвукового исследования белкового спектра сыворотку подвергают воздействию 4 оригинальными растворами, которые необходимы для селективного осаждения белков. Производительность метода по определению белкового спектра — 10 проб в час. Для определения концентрации общего белка не нужны реагенты, время определения — 2 мин на пробу.

Картина распределения белковых фракций выдается прибором в привычном для врача виде (как при электрофоретическом разделении). Результаты представляются в количественном и графическом виде на экране персонального компьютера (ПК) и при необходимости переносятся на бумагу в виде бланков через обычный принтер, подключенный к компьютеру. Все данные исследований сохраняются в архиве ПК в виде бланков, т. е. с указанием данных больного, даты исследования, всех полученных параметров исследования и всех пометок, сделанных исследователем.

**Результаты и обсуждение.** Концентрация общего белка в сыворотке, определяемая ультразвуковым методом ("БИОМ-01М"), сопоставима со значениями общего белка, которые были получены биуретовым методом. На основании выборки из 80 проб сыворотки с концентрацией общего белка в диапазоне 40—140 г/л был проведен регрессионный анализ и рассчитан коэффициент корреляции

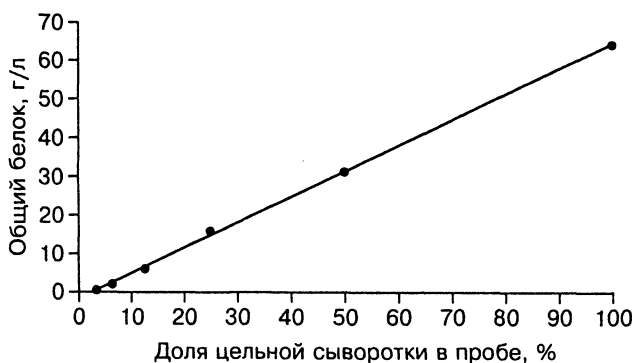


Рис. 2. Зависимость показания прибора от разведения в одной и той же сыворотке.

Таблица 3

Коэффициенты вариации, полученные при определении белковых фракций в контрольном материале Serodos и сливной сыворотке на приборе "БИОМ-01М"

Фракции белков	Serodos		Сливная сыворотка		Приказ № 45 Минздрава РФ CV <sub>10</sub> , %
	воспроизводительность, %				
	внутрисерийная	общая аналитическая	внутрисерийная	общая аналитическая	
Альбумин	2,4	5,2	3,25	3,5	4,4
Глобулины:					
α <sub>1</sub>	3,6	36,0	1,1	5,0	22,6
α <sub>2</sub>	8,2	10,8	2,6	2,3	12,7
β	0,3	3,2	0,9	2,0	9,2
γ	6,7	12,9	6,9	9,6	12,3

Примечание. Результаты сравниваются с рекомендуемыми значениями по приказу № 45 Минздрава РФ. Видно, что по сливной сыворотке все показатели хорошо согласуются с рекомендуемыми, по контрольной сыворотке Serodos разброс больше.

для оценки связи показателей, полученных двумя методами (см. рис. 1). На основании соответствия между методами сделано заключение, что корректно использовать значения общего белка из прибора "БИОМ-01М" для автоматического определения белковых фракций в абсолютных значениях (в г/л). Оценивались также аналитические критерии определения общего белка: воспроизводительность (табл. 1), правильность и чувствительность. Правильность определения общего белка ультразвуковым методом оценивалась с помощью аттестованных контрольных сывороток. Результаты представлены в табл. 2. Следует отметить, что в качестве контроля для ультразвукового метода определения белка подходит лишь контрольная сыворотка Serodos ("Human", Германия). Другие контрольные сыворотки не удовлетворяли аналитическим критериям, что связано, по-видимому, с заменой воды в этих сыворотках на стабилизаторы. Для оценки чувствительности мы определяли способность метода выявлять наименьшее количество анализируемого вещества, которое еще можно отличить от нуля. Разработчики прибора "БИОМ" заявляли о выполнении линейности зависимости относительного изменения скорости ультразвука от концентрации

Таблица 4

Коэффициенты корреляции Пирсона (R) для белковых фракций в разных группах пациентов

Группа пациентов	Альбумины	Глобулины			
		α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	β	γ
Общая выборка (n = 80)	0,77	0,47	0,06	-0,04	0,91
С нормальным уровнем общего белка (65—85 г/л)	0,67	0,27	0,2	-0,31	0,5
С уровнем общего белка < 65 г/л	0,83	0,27	-0,17	0,11	0,51
С уровнем общего белка > 85 г/л	0,95	-0,14	0,65	0,44	0,92

Примечание. Для числа степеней свободы  $f = 80 - 2 = 78$  и уровня значимости 5% статистически значимыми оказались лишь коэффициенты корреляции для альбумина, α<sub>1</sub>- и γ-фракции глобулинов.

Таблица 5

Результаты определения корреляции Спирмена для каждой из фракций по всей выборке (n = 80)

Белковые фракции	Корреляция
Альбумины	+
Глобулины:	
$\alpha_1$	+
$\alpha_2$	-
$\beta$	-
$\gamma$	+

Примечание. + — корреляция статистически значима ( $p < 0,05$ ); - — корреляция статистически незначима.

общего белка в сыворотке в диапазоне 10—150 г/л. Был проведен эксперимент с разведением сыворотки больного (рис. 2). Линейная зависимость выполняется в разведениях примерно до 15 г/л. Это не противоречит заявленной линейной зависимости при диапазоне значений общего белка 10—150 г/л. Более того, пусть с потерей строгой линейности, но метод позволяет выявить чрезвычайно низкие концентрации белка (вплоть до 1—2 г/л). Таким образом, метод достаточно чувствителен для определения концентрации общего белка. Сыворотку разбавляли физиологическим раствором (0,9% раствор NaCl). При определении белковых фракций в контрольных материалах также были получены результаты, хорошо согласующиеся с рекомендуемыми (табл. 3).

Для количественного сопоставления спектров, полученных двумя методами, были определены коэффициенты корреляции по каждой фракции в общей совокупности пациентов, а также отдельно в группах пациентов с нормальным, высоким и низким содержанием общего белка в сыворотке (табл. 4). Коэффициент корреляции Пирсона удовлетворительно характеризует лишь связи, не слишком от-

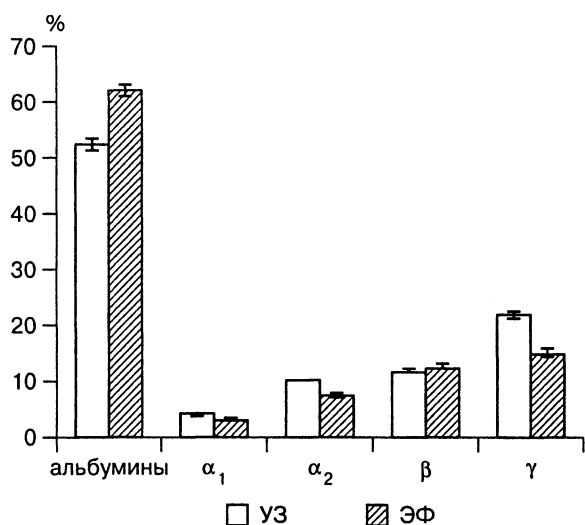


Рис. 3. Средние значения процентного содержания фракций, рассчитанные по выборке с нормальным содержанием общего белка (65—85 г/л) для каждого метода.

УЗ — прибор "БИОМ-01М"; ЭФ — распределение белковых фракций на электрофоретической системе "Paragon" (n = 36). По оси абсцисс — 5 фракций сыворотки крови; по оси ординат — доля каждой фракции от общего содержания белка (в %). Указаны средняя величина и ошибка средней.

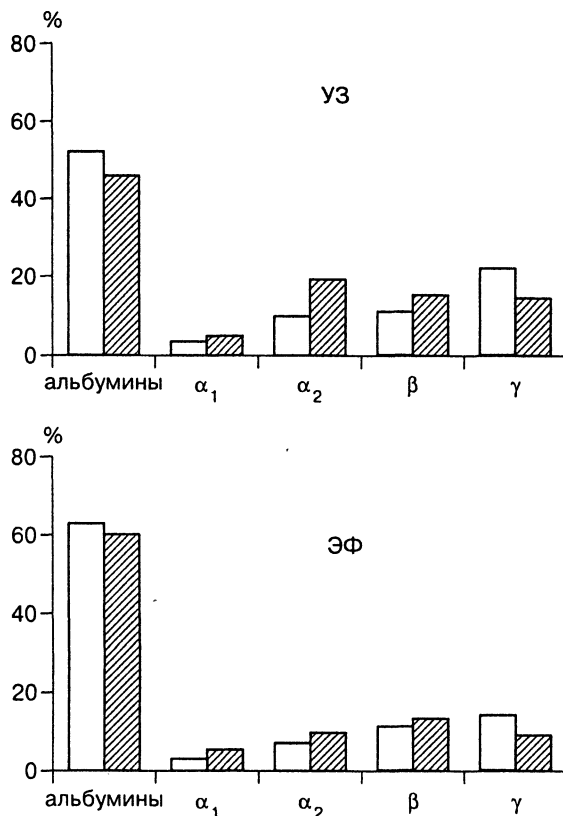


Рис. 4. Изменение соотношения фракций у больных по сравнению с контрольной группой для каждого метода.

УЗ — прибор "БИОМ-01М"; ЭФ — распределение белковых фракций на электрофоретической системе "Paragon". По оси абсцисс — 5 белковых фракций сыворотки крови; по оси ординат — доля фракции от концентрации общего белка в сыворотке (в %). Указаны средние значения по группе. Здесь и на рис. 5: светлые столбики — норма; заштрихованные столбики — нефротический синдром.

клоняющиеся от прямолинейных. Кроме того, необходима проверка статистической значимости коэффициента корреляции. Для числа степеней свободы  $f = 80 - 2 = 78$  и уровня значимости 5% статистически значимыми оказались лишь коэффициенты корреляции для альбумина,  $\alpha_1$ - и  $\gamma$ -фракции глобулинов.

Такие же результаты были получены при использовании непараметрических методов статистического анализа (метод Блэнда—Алтмана и метод ранговой корреляции Спирмена) (табл. 5).

Далее рассматривались отдельно группы больных с определенным типом электрофореграмм и сравнивались с контрольной группой. В качестве сравнения была взята группа пациентов (n = 36) с нормальным содержанием общего белка в сыворотке (65—85 г/л). Были получены средние значения фракций (в %) по каждому методу в контрольной группе (рис. 3), которые затем сравнивались со значениями в группах с определенной патологией. Статистическая проверка показала, что при уровне значимости 5% только для  $\beta$ -фракции методы дают одинаковые значения в контрольной группе, по остальным же показателям статистически достоверны были различия между двумя методами. Видно, что данные по двум методам различаются (кроме  $\beta$ -фракции). Достоверность различий проверялась при помощи непараметрического критерия Манна—Уитни с поправкой Йетса для

Изменения соотношения отдельных фракций, выявленные при электрофоретическом разделении белков, в группе пациентов с нефротическим синдромом и соответствующие им изменения на приборе "БИОМ-01М"

Определяемые фракции	"БИОМ-01М" (УЗ)				"Paragon" (ЭФ)			
	среднее значение в контрольной группе (n = 36)	среднее значение в группе больных с нефротическим синдромом (n = 7)	изменение показателя		среднее значение в контрольной группе (n = 36)	среднее значение в группе больных с нефротическим синдромом (n = 7)	изменение показателя	
			характер изменения	статистическая значимость			характер изменения	статистическая значимость
Альбумин	52,3 ± 0,7	46,0 ± 0,8	↓	+	62,4 ± 1,0	60,2 ± 0,8	↓	-
Глобулины:								
α <sub>1</sub>	4,0 ± 0,2	5,1 ± 0,13	↑	-	2,8 ± 0,2	5,6 ± 0,13	↑	+
α <sub>2</sub>	10,2 ± 0,2	19,4 ± 0,4	↑	+	7,5 ± 0,4	10,3 ± 0,4	↑	+
β	11,7 ± 0,2	14,8 ± 0,3	↑	+	12,4 ± 0,4	13,7 ± 0,3	↑	-
γ	21,8 ± 0,6	14,7 ± 0,6	↓	+	14,8 ± 0,7	10,2 ± 0,6	↓	-

Примечание. Приведены значения фракций в виде  $\bar{X} \pm m$ , где  $\bar{X}$  — средняя величина по выборке,  $m$  — ошибка средней. Видно, что направления сдвигов совпадают для двух методов. Характерно снижение уровня альбуминов и увеличение содержания глобулинов (кроме γ-фракции).  $n$  — число пациентов в группе. Статистическая значимость проверялась для уровня значимости 5% при помощи непараметрического  $T$ -критерия Манна—Уитни с поправкой Йетса.

$\alpha = 5\%$ . Поэтому было решено в разных группах пациентов сравнивать не два метода между собой, а провести качественный анализ изменений показателей по сравнению с контрольной группой для каждого метода отдельно.

Наиболее показательные результаты получены в группе пациентов с нефротическим синдромом (рис. 4, табл. 6). Чтобы изменения при данной патологии были более наглядными, на рис. 5 приведены диаграммы, где фракции выражены в абсолютных значениях (в г/л). Это обоснованно, так как при нефротическом синдроме происходит значительная потеря белков и резко снижается концентрация общего белка в сыворотке крови. Поэтому выражение результатов в абсолютных значениях имеет при данной патологии большее значение.

У пациентов с высоким содержанием общего белка (> 80 г/л) часто встречаются парапротеинемии. При этом на электрофореграмме, как правило, появляются дополнительные полосы, чаще в области γ-фракции. В таких случаях важной явля-

ется именно визуальная оценка протеинограмм, которая не может быть проведена в случае использования прибора "БИОМ-01М". Представляло интерес проследить, как такие случаи интерпретирует "БИОМ-01М". Нами было отработано 39 случаев появления М-градиента в области γ-фракции при электрофоретическом разделении белков. Сначала было проведено сравнение результатов по средним величинам (рис. 6). Видно резкое увеличение γ-фракции на фоне выраженного снижения уровня альбуминов. Метод хорошо выявляет данную патологию. Затем был проведен качественный анализ, т. е. сравнение картины распределения фракций попарно (рис. 7). Выяснилось, что лишь в 24 (61,5%) случаях из 39 рассмотренных прибор однозначно трактует патологию как М-градиент в области γ-фракции. Еще в 9 случаях прибор указал на значительное увеличение γ-фракции (более чем на 50%), в остальных же случаях увеличение фракции было немногим больше нормы. Таким образом, для случаев с М-градиентом можно констатировать диагностическую чувствительность метода примерно 60%, что не позволяет его использовать для дифференциальной диагностики. Однако метод позволяет проводить скрининговые исследования, так как высока его диагностическая специфичность (ни разу не появлялся М-градиент в сыворотке здоровых людей).

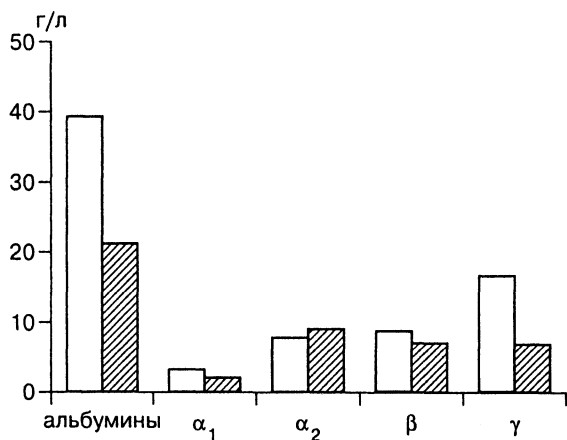


Рис. 5. Изменение соотношения фракций в абсолютных значениях у больных по сравнению с контрольной группой для ультразвукового метода.

По оси абсцисс — 5 белковых фракций сыворотки крови; по оси ординат — концентрация каждой фракции (в г/л).

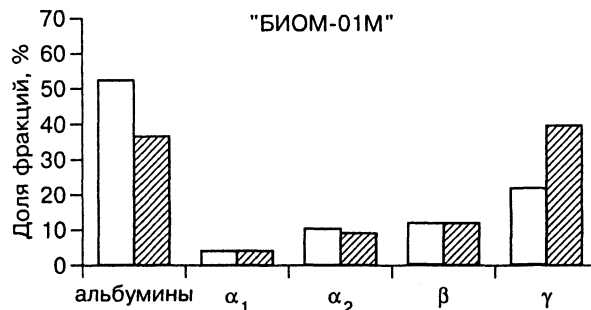


Рис. 6. Изменение фракций по сравнению с контрольной группой при парапротеинемиях.

Светлые столбики — норма, заштрихованные — парапротеинемия.



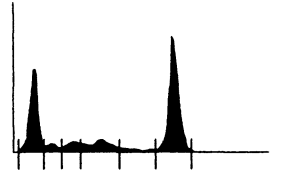
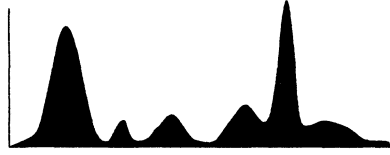

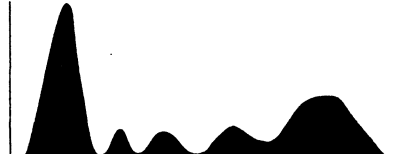
 Так выглядит типичная электрофореграмма при миеломной болезни	Число случаев	% от общего числа случаев	Вид протеинограммы, полученный на приборе "БИОМ-01М" при исследовании сывороток с М-градиентом на электрофореграмме
"БИОМ-01М" также выявил М-градиент	24	61,5	
Выявлено увеличение $\gamma$ -фракции более чем на 50%	9	23	
Незначительное увеличение фракции	6	15,5	

Рис. 7. Качественный анализ изменений  $\gamma$ -фракции в случаях с М-градиентом (чувствительность метода  $\approx 60\%$ , специфичность близка к 100%).

Объяснение в тексте.

Проведенные исследования и статистические расчеты показали, что изучаемый прибор действительно представляет интерес для КДЛ как для определения концентрации общего белка в сыворотке крови, так и для анализа соотношения белковых фракций. Показатели прибора при скрининговых исследованиях практически не уступают электрофоретическому разделению белковых фракций. Более того, учитывая большую точность акустического резонаторного метода, лежащего в основе прибора, можно предположить, что ультразвуковое исследование сыворотки может дать гораздо больше информации при усовершенствовании математической модели, применяемой в приборе.

В ходе исследований нами были сделаны следующие выводы:

- Прибор "БИОМ-01М" может быть использован для определения концентрации общего белка сыворотки в КДЛ. Получена высокая степень корреляции ( $R = 0,97$ ) между значениями, полученными на данном приборе и традиционным биуретовым методом ( $p < 0,05$ ). Коэффициент вариации по общему белку составил 1,7%, что соответствует нормам аналитической точности. По чувствительности и правильности метод не уступает биуретовому. Для определения концентрации общего белка на приборе "БИОМ-01М" требуется 250 мкл сыворотки крови. Время определения — 2 мин на 1 пробу. Не требуется никаких реактивов.

- Оценка распределения белковых фракций с помощью прибора "БИОМ-01М" может применяться в качестве скринингового метода. При сравнении показателей прибора с данными электрофоретического исследования достоверная корреляция ( $p < 0,05$ ) была установлена для фракции альбуминов,  $\alpha_1$ - и  $\gamma$ -глобулинов. Было проведено сравнение процентного содержания фракций в группах с различной патологией и в контрольной группе для каждого из двух методов. Тенденции изменений достоверно совпадали по двум методам для всех диагностически значимых фракций для данной патологии во всех группах ( $p < 0,05$ ). Для случаев с М-градиентом диагностическая чувствительность нового метода составила лишь 60%, диагностическая специфичность — примерно 100%. Работа по усовершенствованию метода продолжается, однако на сегодняшний день преждевременным является использование "БИОМ-01М" в специализированных онкогематологических лабораториях вместо электрофореза.

- Общая аналитическая воспроизводимость для всех белковых фракций сыворотки крови соответствует нормам аналитической точности по приказу № 45 Минздрава РФ.

- Исследование с помощью акустического прибора "БИОМ-01М" имеет преимущества перед традиционными методами:

- методика проста в применении;
- требует гораздо меньше времени, чем электрофорез;

- нужно минимальное количество реактивов;
- прибор гораздо дешевле, чем электрофоретические системы;
- вся информация об исследовании остается в памяти компьютера и может быть перенесена на бланк в любое время сколько угодно раз.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов В. В., Шевченко О. П. Лабораторная диагностика нарушений обмена белков. Учебное пособие. — М., 1997.
2. Камышиников В. С. Справочник по клинико-биологической лабораторной диагностике. — Минск, 2000.
3. Карягина И. Ю. Электрофорез. Клинико-диагностическая интерпретация электрофоретических белков сыворотки крови. — СПб., 2000.
4. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М., 1987.
5. Титов В. Н., Амелюшкина В. А. Электрофорез белков сыворотки крови. — М., 1994.
6. Bamber J. C., Hill C. R. // *Ultrasound Med. Biol.* — 1979. — Vol. 5. — P. 149—157.

© А. Н. АФАНАСЬЕВА, В. А. ЕВТУШЕНКО, 2005

УДК 616.33-006.6-089.168.1-06:616-008.6]-074

А. Н. Афанасьева, В. А. Евтушенко

## ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

ГУ НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН

Повышение интереса к проблеме эндогенной интоксикации (ЭИ) в хирургии в последнее десятилетие имеет три причины. Во-первых, возросло понимание клиницистами важной роли ЭИ в развитии и исходе многих заболеваний [3, 4, 7]; во-вторых, появились надежные методы лабораторной диагностики ЭИ [8, 16, 17, 19]; в-третьих, в настоящее время имеется достаточно много разнообразных по механизму действия методов дезинтоксикации [2, 6]. ЭИ может иметь как инфекционную природу, так и метаболическую. Чрезмерное повышение ЭИ приводит к срыву адаптационных механизмов. В раннем послеоперационном периоде высокий уровень ЭИ может сам стать причиной развития многих осложнений, вплоть до полиорганной недостаточности [4]. Адекватная диагностика ЭИ по клиническим признакам в условиях интенсивной терапии, как правило, невозможна. Клиническая картина в этом случае в большей степени обусловлена фармакологическим действием лекарств. В этих условиях единственно объективными способами оценки уровня ЭИ являются лабораторные методы. В настоящее время наиболее адекватной считается оценка ЭИ по уровню токсемии [5]. Исторически ранним и хорошо зарекомендовавшим себя показателем ЭИ также является лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по Кальф-Калифу [10, 15]. Однако чаще всего используется единственный метод — подсчет общего количества лейкоцитов в крови. Учитывая выраженные нарушения иммунитета у онкологических больных и проведение химиотерапии этой категории пациентов, реакция лейкоцитов на патологический процесс или травму у них, вероятнее всего,

7. Carstensen E. L., Li K., Schwan H. P. // *JASA.* — 1953. — Vol. 25. — P. 286—289.
8. Gammel P. M., Le Croisette D. H., Heyser R. C. // *Ultrasound Med. Biol.* — 1979. — Vol. 5. — P. 269—277.

Поступила 20.02.03

ACOUSTIC (ULTRASOUND) DETERMINATION OF CONCENTRATION OF WHOLE PROTEIN AND PROTEIN FRACTIONS IN BLOOD SERUM. E.N. Tamarova, V.A. Klemin, A.P. Roitman, V.V. Dolgov

A new method is suggested for determining the concentration of whole protein and the distribution of protein fractions in blood serum by means of an ultrasound device. The acoustic method is based on measuring the proliferation rate and absorption of the ultrasound signal in the examined serum. The findings of the method were compared with those obtained by routine tools in examining both blood sera of patients and controls. A high correlation factor was registered for the biuret method in the determination of the concentration of whole protein ( $R = 0.95$ ;  $p < 0.05$ ). It was demonstrated as possible to use the discussed method as a screening tool in evaluating the distribution of protein fractions. The examination findings are generated by the instrument as in the electrophoretic examination. The method is simple in use. No reagents are needed.

имеет свои особенности. Четкой позиции по вопросу, какие лабораторные критерии и когда необходимо применять для оценки ЭИ, в настоящее время не существует. Проблема ЭИ у онкологических больных имеет особое значение. Нельзя забывать, что ЭИ больных раком обусловлена как тяжестью основного заболевания, так и применяемыми методами лечения: химиотерапией, лучевой терапией, хирургической операцией, ятрогенной интоксикацией. Учитывая исходно высокий уровень токсемии у больных раком, еще большее ее нарастание в раннем послеоперационном периоде может приводить к серьезным сбоям в работе органов и систем организма. Эндотоксины могут стать причиной дисфункции эндотелия, что в свою очередь является патогенетическим звеном развития многих патологических состояний — синдрома системного воспаления, полиорганной недостаточности и сепсиса, а также ишемических и реперфузионных повреждений [11].

В нашей работе мы поставили цель — проследить динамику основных лабораторных показателей ЭИ и оценить корреляционную связь между ними в раннем послеоперационном периоде у больных раком желудка.

**Материалы и методы.** В исследование методом случайной выборки было включено 23 больных раком желудка стадии Т3N1—2M1—2 заболевания, которым выполнена радикальная операция. Показатели ЭИ определяли за 2 ч до операции, через 30 мин по окончании операции, а также на 1, 3, 5, 7, 14-е сутки после операции. Для оценки уровня ЭИ в крови пациентов определяли: индекс токсичности