

УДК: 577.114.5+ 577.112.853  
©Коллектив авторов

## **БИОПОЛИМЕРЫ МОЧИ БОЛЬНЫХ СИРИНГОМИЕЛИЕЙ**

*С.Б. Хуснутдинова<sup>1</sup>, С.А. Башкатов<sup>1</sup>, Н.А. Борисова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт нефтехимии и катализа АН РБ и УНЦ РАН, 450075,  
г. Уфа, проспект Октября, 141; тел./факс (3472) 31-27-50.

<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, 450000,  
г. Уфа, ул. Ленина, 3; тел./факс: (3472) 22-37-51.

Методами гельфильтрации, анионообменной хроматографии и аналитической химии выявлены нарушения в составе биополимеров мочи больных синрингомиелией: повышенный уровень кислых гликопротеинов и сниженное содержание гликозаминогликанов. Показано, что по сравнению с нормой протеогликаны содержат меньший гликозаминогликановый компонент, свидетельствующий об их дефектности.

**Ключевые слова:** синрингомиелия, моча, биополимеры, гликозаминогликаны, протеогликаны, хроматография.

**ВВЕДЕНИЕ.** Синрингомиелия - тяжелое заболевание нервной системы, основными патоморфологическими проявлениями которого являются образование полостей и разрастание глиозной ткани в спинном и головном мозге. Оно возникает на фоне многочисленных скелетных аномалий (низкий рост, сколиоз, дисплазии лица, краниовертебральные аномалии и т. д.). Дефицит вегетативной иннервации по мере прогрессирования болезни приводит к выраженным трофическим нарушениям в коже, костях и суставах [1]. Перечисленные патологические особенности свидетельствуют о глубоком нарушении обмена веществ, сопряженном с метаболизмом протеогликанов (ПГ) межклеточного матрикса [2], поэтому выяснение характера этих нарушений представляется важным условием для понимания патогенеза синрингомиелии и разработки подходов к ее лечению. Наиболее функционально важными компонентами ПГ являются гликозаминогликаны, белки и нейтральные сахара [3]. Целью настоящего исследования была оценка статуса биополимеров мочи у больных синрингомиелией.

**МЕТОДИКА.** Обследовано 33 больных в возрасте от 18 до 60 лет. Диагноз был установлен на основании типичных неврологических симптомов и ЯМР-исследований. Контрольную группу составили 12 практически здоровых лиц той же половозрастной группы. В образцах суточной мочи определяли общие уроновые кислоты (УК) и креатинин (Кр) [4]. Для определения состава гликозаминогликанов (ГАГ) 100 мл мочи подвергали гельфильтрации на сефадексе G-25 в хроматографической колонке высотой 90 см и диаметром 2,7 см [5]. Высокомолекулярную фракцию (ВМФ), освобожденную от низкомолекулярных примесей (прежде всего от глюкуронидов), фракционировали методом ионообменной хроматографии. Для этого ВМФ наносили на колонку объемом 10 см<sup>3</sup>, высотой 7 см и диаметром 0,68 см, заполненную DEAE-целлюлозой,

промывали дистиллированной водой до нулевой оптической плотности элюента при длине волны 220 нм. Фракции элюировали 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,7, 0,9 и 1,5 М водными растворами хлорида натрия. Каждую фракцию собирали отдельно, элюент упаривали, сухой остаток растворяли в известном объеме дистиллированной воды, отбирали аликвоту на определение уроновых кислот, нейтральных сахаров и белка. Содержание уроновых кислот определяли карбазоловым методом [6], белка - по Лоури [7], нейтральных сахаров - антроновым методом [8]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel, вычисляя средние значения, среднеквадратические отклонения и коэффициенты Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Индекс уроновые кислоты/креатинин (УК/Кр) в моче контрольной группы составил  $162,12 \pm 40,6$  мкг/мг. У больных этот показатель был в 1,4 раза ниже ( $112,36 \pm 32,38$ ;  $p < 0,05$ ). Низкомолекулярные УК в моче представлены, в основном, глюкуронидами [9], поэтому полученные данные свидетельствуют о том, что у больных синингомиелией снижена интенсивность глюкуронидной конъюгации.

Фракционный состав гликозаминогликанов в моче практически здоровых лиц представлен в таблице 1. У пациентов с синингомиелией отмечались статистически достоверные различия в величинах этого показателя. Так, уровень ГАГ в 1-ой фракции был в 2 раза ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Во 2-ой и 3-ей фракциях этот показатель составлял 71,5% и 75% от уровня контроля ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). В 4-ой фракции не было обнаружено статистически достоверных различий, а в 5-ой наблюдалось превышение нормального уровня ГАГ в группе больных синингомиелией в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). В 6-ой фракции данный показатель был в 3,5 раза выше контрольного уровня ( $p < 0,05$ ). В 7-ой фракции гликозаминогликаны не обнаруживались.

Таблица 1. Содержание ГАГ в хроматографических фракциях (УК/Кр)

Группа	№ фракции							Общее содержание
	1	2	3	4	5	6	7	
Контроль (нг/мг)	$846,3 \pm 380,9$	$316,6 \pm 112,2$	$335 \pm 95,6$	$331,0 \pm 113,4$	$188,0 \pm 104,3$	$21,7 \pm 0,79$	-	$1983,63 \pm 420,86$
Синингомиелия (нг/мг)	$413,3 \pm 296,1^*$	$226,1 \pm 36,6^*$	$251 \pm 48,7^*$	$303,2 \pm 48,7$	$331,0 \pm 177,5^*$	$73,7 \pm 28,4^*$	-	$1620,35 \pm 34,73^*$

Примечание: здесь и в табл. 2 и \* - различие с контролем статистически достоверно,  $p < 0,05$

Уровень нейтральных сахаров был существенно увеличен у больных в 1-4 фракциях ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). Суммарно же уровень нейтральных сахаров в 1,5 раза превышал контрольные значения ( $p < 0,05$ ).

В группе больных синингомиелией в 1-ой и 2-ой фракциях не было достоверных различий по индексу белок/креатинин в сравнении с контрольными значениями (табл. 3). В 3-6 фракциях у пациентов обнаруживалось значительное повышение уровня белка в 1,6; 2; 1,7 и 1,8 раза выше контрольных значений ( $p < 0,05$ ). Индекс общий белок/креатинин у больных синингомиелией имел тенденцию к повышению по сравнению с уровнем контроля ( $p < 0,1$ ).

В связи с тем, что во всех анализируемых фракциях присутствуют уроновые кислоты, белок и нейтральные сахара, представляется очевидным, что они содержат фрагменты протеогликановых комплексов. Известно, что в протеогликанах гликозаминогликаны соединены с белковой сердцевинной посредством трисахаридного звена, состоящего из остатка ксилозы и двух остатков галактозы. Протеогликаны в процессе деградации в значительной степени теряют полимерный гликозаминогликановый и белковый компоненты. Во фрагментах ПГ мочи к одному трисахариду теоретически может быть

### БИОПОЛИМЕРЫ МОЧИ БОЛЬНЫХ СИРИНГОМИЕЛИЕЙ

Таблица 2. Содержание нейтральных сахаров в хроматографических фракциях (НС/Кр)

Группа	№ фракции							Общее содержание
	1	2	3	4	5	6	7	
Контроль (мкг/мг)	8,26± 3,15	1,50± 0,6	0,58± 0,14	0,37± 0,19	0,28± 0,12	0,11± 0,04	-	11,27± 2,74
Сирингомиелия (мкг/мг)	11,7± 4,56*	2,27± 0,68*	1,39± 0,78*	0,62± 0,23*	0,36± 0,17	0,16± 0,04	-	16,93± 5,87*

Таблица 3. Содержание белка в хроматографических фракциях (Б/Кр)

Группа	№ фракции							Общее содержание
	1	2	3	4	5	6	7	
Контроль (мкг/мг)	10,02± 2,51	5,22± 1,38	2,58± 0,47	1,05± 0,41	0,54± 0,35	0,27± 0,12	-	19,68± 3,89
Сирингомиелия (мкг/мг)	10,09± 2,56	5,02± 1,49	4,06± 1,95*	2,11± 1,19*	0,96± 0,51*	0,48± 0,17*	-	22,72± 5,67

присоединен всего один остаток уроновой кислоты. Следовательно, молярное соотношение *нейтральные сахара: уроновые кислоты* в таких протеогликанах составляет 3:1. Исходя из этого, доля нейтральных сахаров (НС/Кр) в составе ПГ контрольной группы (табл. 4) составляла в 1-6 фракциях не более 2,53±0,41, 0,95±0,19, 0,58±0,14, 0,37±0,19, 0,28±0,12, 0,11±0,04 мкг/мг соответственно. У больных сирингомиелией этот показатель в 1 и 2 фракциях составлял 50% и 72% от уровня контроля, а в 3-6 фракциях превышал контрольные значения в 1,3, 1,7, 1,3 и 1,5 раза. Доля нейтральных сахаров, входящих в состав кислых гликопротеинов (ГП), согласно расчетным данным (общее количество НС минус максимально возможное их содержание в составе ПГ), в группе контроля составляла в 1-ой фракции не менее 5,72±1,14; во 2-ой - не менее 0,55±0,15 (табл. 4). У больных данный показатель был выше: в 1-ой фракции в 1,8 и во 2-ой фракции в 2,9 раз (табл. 4).

Таблица 4. Расчетное содержание нейтральных сахаров в составе протеогликанов и кислых гликопротеинов

№ фракции	Содержание нейтральных сахаров в составе протеогликанов (НС/Кр)		Содержание нейтральных сахаров в составе кислых гликопротеинов	
	Контроль (мкг/мг)	Сирингомиелия (мкг/мг)	Контроль (мкг/мг)	Сирингомиелия (мкг/мг)
1	≤ 2,53 ± 0,41	≤ 1,24 ± 0,25	≥ 5,72 ± 1,14	≥ 10,53 ± 4,0
2	≤ 0,95 ± 0,19	≤ 0,68 ± 0,15	≥ 0,55 ± 0,15	≥ 1,59 ± 0,29
3	≤ 0,58 ± 0,14	≤ 0,75 ± 0,21	0	≥ 0,64 ± 0,23
4	≤ 0,37 ± 0,19	≤ 0,62 ± 0,23	0	0
5	≤ 0,28 ± 0,12	≤ 0,36 ± 0,17	0	0
6	≤ 0,11 ± 0,04	≤ 0,16 ± 0,04	0	0

Соотношение УК/НС в 3-ей, 4-ой и 5-ой фракциях контроля имело следующие значения: 603±95, 1005±255, 1090±270 соответственно. У больных эти показатели были существенно ниже - в 3,2; 1,8 и 1,4 раза соответственно, что свидетельствует о большей деполимеризации ГАГ в сравнении с контролем.

Таким образом, у лиц, страдающих сирингомиелией, в первых фракциях снижено содержание ГАГ и повышена концентрация НС, что свидетельствует об уменьшении уровня ПГ и повышении - ГП. В последующих трех фракциях у больных, наоборот, увеличено содержание ГАГ и белка при несколько

повышенном уровне НС. Это может быть объяснено возрастанием доли протеогликанов у больных при неизменном содержании гликопротеинов.

Полученные данные свидетельствуют, что в моче больных сирингомиелией повышен уровень кислых гликопротеинов. Кроме того, протеогликановые фрагменты содержат меньший гликозаминогликановый компонент по сравнению нормой, что позволяет сделать заключение о дефектности протеогликанов в организме людей, страдающих сирингомиелией.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова Н. А., Валикова И. В., Кучаева Г. А. (1989) Сирингомиелия. М.: Медицина.
2. Башкатов С.А. (1996) Гликозаминогликаны в механизмах адаптации организма. Уфа.
3. Слуцкий Л.И. (1969) Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани.-Л.:Медицина.
4. Колб В. Г., Камышников В. С. (1976) Клиническая биохимия.- Минск.
5. Kodama C., Kodama T., Yosizawa Z. (1988) J. Chromatogr., **429**, 293-313.
6. Chaplin M. F., Kennedy J. F. (1986) Carbohydrate analysis. A practical approach.- Oxford.
7. Кочетов Г.А. (1971) Практическое руководство по энзимологии.- М.
8. Jermyn M.A. (1975) Analyt. Biochemistry, **68**, 332-335.
9. Голиков С.Н., Саноцкий И. В., Тиунов Л. А. (1986) Общие механизмы токсического действия.- Л.: Медицина.

Поступила 27.01.2002.

### URINE BIOPOLYMERS OF SYRINGOMYELIA PATIENTS

*S. B. Khusnutdinova<sup>1</sup>, S.A. Bashkatov<sup>1</sup>, N.A. Borkova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Petrochemistry and Catalysis, Bashkirian Academy of Science and Ufa Scientific Centre of Russian Academy of Science, 450075, Ufa, pr. Oktyabria, 141; phone/fax: (3472) 31-27-50.

<sup>2</sup>Bashkirian State Medical University, 450000, Ufa, ul. Lenina, 3; phone/fax (3472) 22-37-51.

Urine of patients with syringomyelia was analysed by gel filtration, ion-exchange chromatography and analytical chemistry methods. Increased level of acidic glycoproteins and decreased level glycosaminoglycans levels were found. Patients with syringomyelia had smaller glycosaminoglycans components of proteoglycans than normal subjects.

**Key words:** syringomyelia, urine, biopolymers, glycosaminoglycans, proteoglycans, chromatography.