

ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

О МАРКЕРАХ ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ

В.Д.Папонов, В.В.Папонов, Г.В.Байдакова

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Анализ белкового состава лейкоцитов позволил выявить в качестве маркеров общей патологии два белковых параметра, которые оказались аномальными ($53K/H2A > 0.25$; $43K/H2A < 1.61$) у всех 1627 обследованных с клинически поставленными диагнозами болезней различной этиологии. Сравнение с традиционными маркерами общей патологии показывает, что по чувствительности и спектру ассоциированных нозологий обнаруженные белковые параметры лейкоцитов могут претендовать на роль золотого стандарта в выявлении общей патологии, для скрининга новорожденных, нуждающихся в лечении или профилактике, работников с вредными условиями труда, населения экологически неблагополучных территорий и для мониторинга больных с целью предотвращения терапевтических осложнений.

Ключевые слова: *общая патология, лейкоциты, белки*

Понятие общей патологии является фундаментом теоретической медицины, поскольку в нем концентрируется обобщенная информация о закономерностях, свойственных всем болезням, независимо от причин конкретных заболеваний и индивидуальных особенностей больных [10,11]. К сожалению, теоретической медициной еще в должной мере не оценено заключение о том, что в развитии любого заболевания имеются так называемые бессимптомные доклинический и послеклинический периоды [10,11]. Из этого следует, что помимо клинических признаков частной и общей патологии, выявляемых визуально в виде анатомических и физиологических повреждений, существуют субклинические признаки патологии, выявляемые на ранних этапах развития заболеваний (доклинические признаки), а также в бессимптомном послеклиническом периоде болезни (послеклинические признаки). Признаки бессимптомной, невидимой клиницисту патологии выявляются с помощью биохимических, иммунологических, биофизических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических исследований.

Цель настоящего сообщения — привлечь внимание исследователей к субклиническим признакам общей патологии и, в частности, к обнаруженным нами в результате двадцатилетних поисков уникальных по чувствительности и спектру выявляемых заболеваний маркеров общей патологии [6-8]. Эти маркеры связаны с аномальной реакцией генетического аппарата лейкоцитов человека на патологические состояния организма, проявляющейся в аномальном содержании в лейкоцитах белков с молекулярной массой 53 и 43 кД (53K и 43K).

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Содержание белков в лейкоцитах крови определяли с помощью одномерного электрофореза в ПААГ и денситометрирования гелевых пластинок, окрашенных и отмытых от избыточного красителя кумасси R-250, на спектрофотометре "Gillford" при $\lambda = 570$ нм по величине амплитуд соответствующих точек денситограмм. Использовали относительные белковые параметры $53K/H2A$ и $43K/H2A$, где $H2A$ — гистоновый белок лейкоцитов.

Обследовали пациентов ($n=1627$), у которых в специализированных медицинских учреждениях клинически были диагностированы: на-

Адрес для корреспонденции: 115478 Москва, ул. Москворечье, д. 1. МГНЦ РАМН. V_Papouov@mail.ru. Папонов В.Д.

следственные болезни, связанные с мутацией конкретного гена (нейрофиброматоз 1 типа, фенилкетонурия; $n=44$); врожденные хромосомные болезни, связанные с анеуплоидией (синдромы Дауна, Клайнфельтера, Шерешевского—Тернера, подтвержденные кариотипически; $n=55$); мультифакторные заболевания с генетической предрасположенностью (псориаз, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки; $n=170$); болезни с врожденными и приобретенными дефектами иммунитета (общая переменная гипогаммаглобулинемия, бронхиальная астма; $n=115$); онкологические заболевания 18 различных локализаций (легкие, желудок, кожа, гортань, кишечник, молочная, щитовидная, предстательная, поджелудочная железы, печень, почки, мочевой пузырь, кости скелета, матка, яичники, головной мозг, лимфатическая и кроветворная ткани; $n=403$); инфекционные заболевания вирусного и бактериального происхождения (гепатит, герпес, папиллома, туберкулез; $n=159$); заболевания, вызванные действием физических факторов, в частности ионизирующей радиацией (лучевая болезнь; $n=13$); болезни различных органов и систем — сердечно-сосудистой ($n=118$), почек и мочевыводящих путей ($n=61$), печени и желчевыводящих путей ($n=140$), уха, горла, носа ($n=61$), костей и суставов ($n=109$), желудочно-кишечного тракта ($n=179$).

Обоснование границы между нормальными и аномальными значениями используемых белковых параметров лейкоцитов дано нами ранее [7]. Значения $53K/H2A \leq 0.25$ и $43K/H2A \geq 1.61$ соответствуют норме.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 100% обследованных содержание белков 53K/H2A и 43K/H2A в лейкоцитах отклонялось от нормы.

Достоинства использованных при обследовании больных маркеров общей патологии можно оценить, сравнив их с другими аналогичными маркерами.

В качестве признаков общей патологии называются качественные признаки тканевых повреждений [10]: отек, нарушения кровообращения (полнокровие, малокровие, стаз, кровотечение), атрофия, дистрофия, некроз; признаками общей патологии могут служить и компенсаторно-приспособительные реакции организма на повреждения — тромбоз, воспаление, регенерация, гипертрофия (гиперплазия), иммунитет. Разработка методов количественной оценки этих признаков пока еще находится в самой началь-

ной стадии и затруднена тем, что у разных индивидов либо на разных этапах развития заболевания аномальные проявления могут отражать как наличие патологического процесса, так и компенсаторную реакцию организма. Это показано на качественном уровне Д.С.Саркисовым и др. [10] и на уровне количественных проявлений иммунитета при псориазе — в нашей предыдущей работе [8].

Количественными клиническими признаками общей патологии могут служить температура тела, ЧСС, частота дыхания, артериальное давление. Эти признаки проявляются при различных патологиях, но по своему определению они не позволяют осуществлять мониторинг больных на до- и послеклинической стадиях заболеваний.

В качестве субклинических признаков общей патологии можно указать широко используемые маркеры, пригодные для мониторинга многих заболеваний: скорость оседания эритроцитов, популяционный состав лейкоцитов периферической крови (формула крови), популяционный состав лимфоцитов, характеризующий состояние клеточного иммунитета; концентрация определенных белков в сыворотке крови, в частности, иммуноглобулинов (характеристики гуморального иммунитета), неоптерина (раннего индикатора активации клеточного иммунитета) [14], белков острой фазы воспаления [9,13], Р-белков (фрагменты рецепторных белков) [4]. В последнее время разработана методика анализа конформационного состояния сывороточного альбумина человека, который также может служить маркером общей патологии [1].

Ранее мы сравнивали чувствительность белковых параметров лейкоцитов и чувствительность популяционного состава лейкоцитов и лимфоцитов при псориазе [8]. Наивысшей чувствительностью к патологии у детей обладала процентная концентрация нейтрофилов (67%), у взрослых — процентная концентрация В-лимфоцитов (78%), тогда как чувствительность белковых параметров лейкоцитов составила 100%.

Т-лимфоцитарный иммунодефицит встречается у 64% больных хроническим бронхитом, у 62% больных гнойно-хирургической инфекцией, у 49% пациентов, часто и длительно болеющих респираторными инфекциями, у 37.5% больных с заболеваниями ЛОР-органов [15].

Анализ содержания в сыворотке крови иммуноглобулинов также позволяет выявлять ограниченный класс заболеваний с дефектами гуморального иммунитета. Наиболее чувствительный С-реактивный белок из группы белков острой

фазы воспаления не реагирует на вирусную инфекцию [9].

Хорошим маркером общей патологии может служить неоптерин, синтез которого начинается под влиянием высвобождающегося из Т-лимфоцитов интерферона- γ , способствующего вместе с различными цитокинами превращению гуанозинтрифосфата в неоптерин, секретируемый макрофагами [14]. Гиперпродукцию неоптерина отмечают при ревматоидном артрите, язвенном колите, системной красной волчанке, рассеянном склерозе, легочном саркоидозе, инсулинзависимом диабете, тиреоидите, фенилкетонурии, у больных с опухолевыми заболеваниями различной локализации, при вирусных инфекциях и при аутоиммунных заболеваниях. Однако чувствительность этого маркера при разных формах рака составляет от 100% при поздних стадиях некоторых заболеваний крови и опухолях у детей до 20% при раке молочной железы [14]. Напротив, содержание маркеров 53К/Н2А и 43К/Н2А аномально у 100% больных с 18 указанными выше локализациями опухолей.

Широким спектром ассоциированных патологий характеризуются Р-белки, однако чувствительность их оценивают только в 80% [4].

Итак, по чувствительности и спектру ассоциированных нозологий белковые параметры лейкоцитов 53К/Н2А и 43К/Н2А могут претендовать на золотой стандарт в выявлении общей патологии, конечно, после сравнения с принятыми сейчас [12] для большинства хронических и дегенеративных заболеваний в качестве золотого стандарта результатами длительных наблюдений.

Использование белковых маркеров общей патологии возможно для выявления патологии новорожденных в качестве просеивающего (скринингового) метода с целью выделения группы нуждающихся в уточняющей диагностике и в профилактическом лечении на доклиническом этапе; для скрининга патологии на доклиническом периоде среди лиц, по роду занятий подвергающихся воздействию вредных для организма физических, химических или биологических факторов, с целью организации профилактики

профессиональных заболеваний; для раннего выявления экопатологии среди населения, проживающего на экологически неблагоприятных территориях, с целью предупреждения хронических заболеваний и инвалидизации; для контроля динамики заболеваний с целью подбора адекватного лечения и предупреждения отрицательных последствий лечебных процедур; для определения завершенности лечения (стабильно нормальное содержание белков 53К и 43К в лейкоцитах крови пациентов); для профилактики заболеваний у детей с наследственной предрасположенностью и отягощенным семейным анамнезом; при клинических испытаниях новых лекарственных средств для выявления противопоказаний к конкретному препарату.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Под ред. Ю.А.Грызунова, Г.Е.Добрецова. М., 1998.
2. Давыдовский И.В. Общая патология человека. М., 1969.
3. Казначеев В.П., Субботин М.Я. Этюды к теории общей патологии. Новосибирск, 1971.
4. Кульберг А.Я. // Иммунология. 1996. № 2. С. 71.
5. Общая патология человека / Под ред. А.И.Струкова и др. М., 1982.
6. Папонов В.Д., Симонова А.В., Малашенкова Е.В. и др. // Иммунология. 1997. № 2. С. 60-63.
7. Папонов В.Д., Сунцова И.Г., Байдакова Г.В., Мордовцев В.Н. // Бюл. exper. биол. 2001. Т. 131, № 3. С. 310-312.
8. Папонов В.Д., Сунцова И.Г., Папонов В.В. и др. // Там же. Т. 132, № 9. С. 247-250.
9. Петрунин Д.Д. // Лаборатория. 1996. № 1. С. 11.
10. Саркисов Д.С., Пальцев М.А., Хитров Н.К. Общая патология человека. М., 1995.
11. Саркисов Д.С. // Бюл. exper. биол. 2001. Т. 131, № 1. С. 5-10.
12. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. М., 1998.
13. Шевченко О.П. // Лаборатория. 1996. № 1. С. 3-6.
14. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Орлова О.В. // Там же. 2000. № 4. С. 6.
15. Ширинский В.С., Старостина Н.М., Сенникова Ю.А., Мальшева О.А. // Аллергол. и иммунол. 2000. Т. 1, № 1. С. 62-70.

Получено 28.11.01

GENERAL PATHOLOGY AND PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY

Markers of General Pathology

V. D. Paponov, V. V. Paponov, and G. V. Baidakova

Translated from *Byulleten' Eksperimental'noi Biologii i Meditsiny*, Vol. 133, No. 3, pp. 262-264, March, 2002
Original article submitted November 28, 2001

Studies of the protein composition of leukocytes revealed markers of general pathology: 2 protein parameters ($53K/H2A > 0.25$; $43K/H2A < 1.61$) differed from normal in 1627 patients with various pathologies. We compared protein parameters of leukocytes with other markers of general pathology. By the sensitivity and spectrum of associated diseases, the detected protein parameters of leukocytes can serve as the gold standard in the diagnostics of general pathology. These protein markers can be used for screening of newborns requiring therapeutic and preventive treatment, employers exposed to occupational hazards, and people inhabiting ecologically unfavorable regions, and for prevention of therapeutic complications in patients.

Key Words: *general pathology; leukocytes; proteins*

The concept of general pathology is a cornerstone for theoretical medicine. It provides general information about various diseases independently on their etiology and individual characteristics of patients [10,11]. Unfortunately, the existence asymptomatic pre- and post-clinical periods in the development of each disease [10,11] is often underestimated in theoretical medicine. Specific and general diseases are characterized not only by clinical signs appearing as anatomical and physiological damages, but also by subclinical signs appearing in the early period and persisting during asymptomatic postclinical period of the disease (pre- and postclinical signs, respectively). Asymptomatic pathology can be detected by biochemical, immunological, biophysical, biomolecular and genetical methods.

This work was designed to call attention of scientists to subclinical signs of general pathology. After 20-year studies we revealed markers of general pathology unique in their sensitivity and spectrum of associated diseases [6-8]. These markers are a result

of abnormal reactions of the genetic apparatus in human leukocytes to pathological conditions manifesting in abnormal content of proteins with molecular weights of 53 and 43 kDa (53K and 43K, respectively) in leukocytes.

MATERIALS AND METHODS

Protein content in blood leukocytes was measured by polyacrylamide gel electrophoresis. Densitometry of gel plates stained and washed from Coomassie R-250 was performed on a Gilford spectrophotometer at 570 nm. The height of the corresponding peaks on densitogram was measured. The relative protein parameters $53K/H2A$ and $43K/H2A$ were analyzed, where H2A is histone protein of leukocytes.

We examined 1627 patients with the following pathologies: hereditary diseases associated with gene mutations (type I neurofibromatosis and phenylketonuria; $n=44$); congenital chromosomal diseases associated with aneuploidy and confirmed karyotypically (syndromes of Down, Klinefelter, and Turner; $n=55$); multifactor diseases with genetic predisposition (psoriasis and ulcers of the stomach and duodenum; $n=170$); diseases accompanied by congenital and acquired im-

Medical and Genetic Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow. **Address for correspondence:** V_Paponov@mail.ru. Paponov V. D.

mune disorders (common variable hypogammaglobulinemia and bronchial asthma; $n=115$); tumors of the lungs, stomach, skin, larynx, intestine, mammary and thyroid glands, prostate, pancreas, liver, kidneys, urinary bladder, bones, uterus, ovaries, brain, and lymphatic and hemopoietic tissues ($n=403$); viral and bacterial infectious diseases (hepatitis, herpes, papilloma, and tuberculosis; $n=159$); diseases caused by physical factors, including ionizing radiation (radiation disease; $n=13$); diseases of the cardiovascular system ($n=118$), kidneys and urinary system ($n=61$), liver and biliary system ($n=140$), ear, throat, and nose ($n=61$), bones and joints ($n=109$), and gastrointestinal tract ($n=179$).

Previously, we established the differences between normal and abnormal protein parameters of leukocytes [7]. Values of $53K/H2A \leq 0.25$ and $43K/H2A \geq 1.61$ corresponded to normal.

RESULTS

The contents of $53K/H2A$ and $43K/H2A$ in leukocytes differed from normal in all patients.

The markers of general pathology were compared with other common parameters.

The following qualitative symptoms of tissue damages are used as general pathological signs [10]: edema, circulatory disturbances (plethora, anemia, hemostasis, and hemorrhage), atrophy, dystrophy, and necrosis. Compensatory and adaptive reactions to damages, including thrombosis, inflammation, regeneration, hypertrophy (hyperplasia), and immune response, also serve as signs of general pathology. Quantitative analysis of these symptoms is difficult because in various patients and at different stages of the disease they reflect pathological process or compensatory reactions. It was demonstrated at the qualitative level by D. S. Sarkisov *et al.* [10]. Moreover, we revealed quantitative manifestations of immune disturbances during psoriasis [8].

Body temperature, heart rate, respiratory rate, and blood pressure serve as quantitative clinical signs of general pathology. These symptoms accompany various pathological processes, but do not allow monitoring of patients at the pre- and postclinical stages.

Markers commonly used for monitoring of diseases can serve as subclinical signs of general pathology: erythrocyte sedimentation rate, differential leukocyte count, population composition of lymphocytes characterizing cell immunity, and plasma levels of various proteins, including immunoglobulin (characteristic of humoral immunity), neopterin (early indicator of activated cell immunity) [14], acute phase proteins [9,13], and P-proteins (fragments of receptor proteins) [4]. Recently, a method for estimating conformation

of human serum albumin (marker of general pathology) was developed [1].

We previously compared changes in protein parameters of leukocytes and population composition of leukocytes and lymphocytes during psoriasis [8]. Changes in the percentage of neutrophils (67%) and B cells (78%) were most pronounced in children and adults with psoriasis, respectively. The sensitivity of protein parameters was 100%.

T cell deficiency is observed in 64% patients with chronic bronchitis, 62% patients with purulent and surgical diseases, 49% patients with recurrent and long-term respiratory infections, and 37.5% patients with of ear, throat, and nose diseases [15].

The measurements of plasma immunoglobulin content allow diagnosing only certain diseases associated with disturbances in humoral immunity. The concentration of most sensitive acute-phase protein C-reactive protein remains unchanged in patients with viral infections [9].

Neopterin can serve as the marker of general pathology. Cytokines and interferon- γ released from T lymphocytes promote conversion of guanosine triphosphate into neopterin, which is secreted by macrophages [14]. Overproduction of neopterin is observed in patients with rheumatoid arthritis, ulcerative colitis, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis, pulmonary sarcoidosis, insulin-dependent diabetes, thyroiditis, phenylketonuria, tumors, viral infections, and autoimmune disorders. However, in cancer patients the sensitivity of this marker varies from 100% (late stages of blood cancer and tumors in children) to 20% (breast cancer) [14]. By contrast, the content of $53K/H2A$ and $43K/H2A$ markers differs from normal in all patients with tumors of 18 organs mentioned above.

P-proteins are associated with various diseases, but their sensitivity is only 80% [4].

Thus, protein parameters of leukocytes $53K/H2A$ and $43K/H2A$ can serve as the gold standard for the diagnostics of general diseases (as compared to long-term observations of patients with chronic and degenerative diseases [12]).

Protein markers of general pathology hold much promise for the diagnostics of diseases in newborns (screening of patients requiring fine diagnostics and preventive treatment in the preclinical period); pre-clinical screening of diseases among individuals exposed to occupational hazards (physical, chemical, or biological factors) and prevention of occupational diseases; early diagnostics of diseases in people inhabiting ecologically unfavorable regions and prevention of chronic disorders and disability; monitoring of diseases, selection of adequate therapeutical methods, and prevention of complications; estimation of completeness of therapy (normal and stable content of $53K$

and 43K proteins in blood leukocytes); prevention of diseases in children with hereditary predisposition; clinical tests of new medicinal preparations; and evaluation of contraindications to the use of drugs.

REFERENCES

1. *Blood Serum Albumin in Clinical Medicine* [in Russian], Eds. Yu. A. Gryzunov and G. E. Dobretsov, Moscow (1998).
 2. I. V. Davydovskii, *General Human Pathology* [in Russian], Moscow (1969).
 3. V. P. Kaznacheev and M. Ya. Subbotin, *Essays on the Theory of General Pathology* [in Russian], Novosibirsk (1971).
 4. A. Ya. Kul'berg, *Immunologiya*, No. 2, 71 (1996).
 5. *General Human Pathology*, Eds. A. I. Strukov *et al.*, Moscow (1982).
 6. V. D. Paponov, A. V. Simonova, E. V. Malashenkova, *et al.*, *Immunologiya*, No. 2, 60-63 (1997).
 7. V. D. Paponov, I. G. Suntsova, G. V. Baidakova, and V. N. Mordovtsev, *Byull. Eksp. Biol. Med.*, **131**, No. 3, 310-312 (2001).
 8. V. D. Paponov, I. G. Suntsova, V. V. Paponov, *et al.*, *Ibid.*, **132**, No. 9, 247-250 (2001).
 9. D. D. Petrunin, *Laboratoriya*, No. 1, 11 (1996).
 10. D. S. Sarkisov, M. A. Pal'tsev, and N. K. Khitrov, *General Human Pathology* [in Russian], Moscow (1995).
 11. D. S. Sarkisov, *Byull. Eksp. Biol. Med.*, **131**, No. 1, 5-10 (2001).
 12. R. Fletcher, S. Fletcher, and E. Vagner, *Clinical Epidemiology. Bases of Evidential Medicine* [in Russian], Moscow (1998).
 13. O. P. Shevchenko, *Laboratoriya*, No. 1, 3-6 (1996).
 14. O. P. Shevchenko, G. A. Olefirenko, and O. V. Orlova, *Ibid.*, No. 4, 6 (2000).
 15. V. S. Shirinskii, N. M. Starostina, Yu. A. Sennikova, and O. A. Malysheva, *Allergol. Immunol.*, **1**, No. 1, 62-70 (2000).
-