

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616-006.04:618.36]-074

Г.Г. Погосян<sup>1</sup>, М.В. Микаелян<sup>1</sup>, А.Х. Авагян<sup>2</sup>, В.К. Гаспарян<sup>1</sup>**АННЕКСИН V В СЫВОРОТКАХ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ НЕКОТОРЫМИ ТИПАМИ РАКА**<sup>1</sup>Институт биохимии Национальной академии наук, 0014, Ереван, Армения; <sup>2</sup>«ДИАЛАБ» Клиническая диагностическая лаборатория, 0014, Ереван, Армения

*Актуально обнаружение биомаркеров, которые могут быть использованы для выявления различных типов опухолей. Так как течение этой болезни может быть бессимптомным, такие маркеры можно применять в широко распространенных скрининговых процедурах. Существует много биомаркеров для детекции рака. Однако все эти маркеры специфичны только для определенного типа опухоли и не могут быть применены в скрининговых процедурах для выявления этой болезни. Аннексин V, Са-зависимый фосфолипидсвязывающий белок, был найден в сыворотках всех беременных женщин на разных стадиях беременности. Исследования проводились методом латексной агглютинации. Более того, этот белок был обнаружен в сыворотках больных несколькими типами рака. Рассматривается возможность применения аннексина V как маркера для скрининга различных типов рака.*

Ключевые слова: аннексин V; латексагглютинация; диагноз рака.

G.G. Pogocyan<sup>1</sup>, M.V. Mikayelian<sup>1</sup>, A.Kh. Avagyan<sup>2</sup>, V.K. Gasparian<sup>1</sup>

THE ANNEXIN 5 IN SERUMS OF PREGNANT WOMEN AND PATIENTS WITH PARTICULAR TYPES OF CANCER

<sup>1</sup>The institute of biochemistry of the National Academy of Sciences, 0014 Yerevan, Armenia; <sup>2</sup>The clinical diagnostic laboratory «DIALAB», 0014 Yerevan, Armenia

*The detection of biomarkers to be applied to reveal different types of tumors is an actual demand of today. Since course of this disease can be asymptomatic these kinds of markers can be applied in widely-distributed screening procedures. Many types of biomarkers for detection of cancer exist. However, all these markers are specific only for particular type of tumor and have no use in screening procedures for detection of this pathology. The Annexin 5, a Ca-dependent phospholipid binding protein, was discovered in serums of all pregnant women on various stages of pregnancy. The study was implemented using method of latex agglutination. More than that, this protein was detected in serums of patients with several types of cancer. The possibility to apply annexin 5 as marker for screening of various types of cancer is considered.*

Keywords: annexin 5; latex agglutination; diagnosis of cancer.

Несмотря на наличие новых терапевтических подходов, смертность при злокачественных опухолях остается лидирующей во многих странах [1]. Рак убивает каждый год более семи миллионов человек. Уровень выживаемости для пациентов со многими типами рака, особенно когда болезнь обнаруживается на последних стадиях, остается низким. Успех лечения этого заболевания существенно улучшается, если болезнь обнаруживается на ранних стадиях развития, когда опухоль все еще локализована. В этом плане представляет очевидный интерес выявление новых биомаркеров, которые могут быть использованы в скрининге различных типов рака. Существует много биомаркеров для детекции специфических типов рака, такие как  $\alpha$ -фетопротейн [2–4], хорионический гонадотропин [5], простататспецифический антиген [6], СА-19-9 [7], СА-125 [8] и другие. Однако все эти маркеры достаточно специфичны только для одного типа опухоли и не могут быть применены в скрининговых процедурах. Поэтому желательно найти маркеры, которые могут быть специфичны для некоторых типов рака и могут быть применены в неспецифическом обнаружении различных типов рака. Такие маркеры могут быть использованы в медицинских программах для скринингового анализа этих заболеваний. Только положительные результаты этих определений будут предполагать дальнейшую специфическую диагностику. Такие скрининговые программы позволят определить болезнь в ее начальной стадии, что улучшит дальнейшее лечение больных.

Антигены, специфичные для опухолей и фетальных тканей, были показаны в кишечной карциноме человека [9], в мышинной полиоме [10] и в разных химически индуцированных опухолях [11, 12]. Кроме того, такие маркеры, как  $\alpha$ -фетопротейн и хорионический гонадотропин, также являются маркерами беременности, и концентрация этих белков в фетальной плазме определяет течение развития плода [13]. Таким образом очевидно, что существует много общего между карциногенезом и эмбриогенезом, и маркеры эмбриогенеза могут служить как маркеры карциногенеза. Так как существует много общих черт между карциногенезом и эмбриогенезом, целесообразно искать маркеры карциногенеза в фетальных тканях и в тканях, которые образуются во время эмбриогенеза. Плацента является органом, который формируется во время беременности, поэтому можно предположить, что она может служить источником опухолевых маркеров. Плацента, с одной стороны, защищает материнский организм от разных вредных веществ, которые синтезируются плодом, а с другой – она синтезирует ряд белков, которые играют важную роль в процессах эмбриогенеза.

Плацента – богатый источник аннексина V, Са-зависимого фосфолипидсвязывающего белка, который обладает антикоагулянтной активностью [14]. Несмотря на то что аннексины являются внутриклеточными белками, существуют данные об их физиологических внеклеточных активностях. В частности, рецепторы для внеклеточных аннексинов локализованы на поверхности клеток и поэтому были предложены несколько возможных внеклеточных функций для этих белков [15, 16]. Они включают роль аннексина V как антикоагулянтного белка, функции аннексина 2 как эндотелиального клеточно-поверхностного рецептора для плазминогена и тканевого активатора плазминогена (t-PA). Сообщается также об антивоспалительных активностях аннексина 1 [17–21], которые опосредуются через взаимо-

Для корреспонденции:

Погосян Гаяне Георгиевна, науч. сотр.

Адрес: 0014, Республика Армения, Ереван, ул. П. Севага, 5/1

E-mail: gayane-poghosyan@excite.com

Таблица 1

Анализ аннексина V в сыворотке беременных ( $p < 0,01$ )

Срок беременности	Число женщин	Положительная реакция	Отрицательная реакция
1–4	30	30 (0,5–1,5 мин)	0
5–7	30	30 (1–2 мин)	0
8–9	25	25 (3–5 мин)	0

действие с хемотаксическими рецепторами на лейкоцитах. Так как процесс коагуляции крови во время карциногенеза нарушен, мы предполагаем, что аннексин V, который обладает антикоагулянтным свойством, может участвовать в этом процессе и может присутствовать в плазме больных с различными типами рака. Далее для детекции этого белка необходимо применение процедуры, которая будет быстрой, эффективной и рентабельной, так как скрининговые анализы должны соответствовать этим критериям. Метод латекс-агглютинации удобен для решения таких задач. Это широко применяемый метод для детекции разных антигенов и антител. Этот очень быстрый и экономичный подход может применяться в скрининговых процедурах для обнаружения различных диагностически важных биомолекул в биологических жидкостях, поэтому мы применили этот подход в наших анализах. Эта статья представляет данные о детекции аннексина V в плазме беременных женщин и больных с некоторыми типами рака с помощью латекс-агглютинации и предлагает применение этого белка как маркера для детекции различных типов рака.

**Материалы и методы. Пациенты.** Были обследованы 177 человек с различными типами рака и различными стадиями беременности. Одновременно исследовали сыворотки больных раком молочной железы, раком простаты, множественной миеломой и раком яичников. Сыворотки больных были предоставлены диагностической лабораторией «Диалаб». Сыворотки беременных женщин (85) были получены из Ереванской городской поликлиники № 8. Рак молочной железы диагностировался определением СА-549 [22], рак простаты определением простатспецифическим антигеном (концентрация более 10 нг/мл). В случае рака яичников определялся СА-125 [23]. Все эти исследования проводились методом ИФА, используя диагностические наборы от DRG (США). Контрольные сыворотки получены от 50 здоровых доноров в возрасте от 20 до 40 лет.

**Очистка аннексина V.** Аннексин V очищался из плаценты человека по методу [24]. Чистота препарата определялась электрофоретически в 10% ПААГ по методу [25]. Аннексин V иммобилизованную сефарозу 4 В готовили по методу [26]. Активность аннексина V определяли ингибированием коагуляции по методу [14]. Шарики полистирольного латекса размером 1 мкм были предоставлены НПФ БИО-ВАР, Армения.

**Получение антител.** Иммунизация кроликов проводилась по следующей схеме: кроликам проводили подкожные инъекции по 0,5 мл аннексина V (0,7 мг); эмульгированного с равным объемом полного адьюванта Фрейнда. Через 40 дней проводили две одинаковые инъекции с интервалом в 7 дней, только вместо полного адьюванта использовали неполный адьювант Фрейнда. Через 7 дней проводили бустерную инъекцию (1 мг) внутримышечно без адьюванта. Кровь брали через 7 дней после последней инъекции.  $\gamma$ -Глобулиновую фракцию очищали по методу [27]. Антитела далее очищались аффинной хроматографией на аннексин V-сефарозе. Присутствие и титр специфических антител устанавливали методом двойной преципитации по методу [28].

**Сенсибилизация латексных шариков.** К 10 мл латекса добавляли 1 мл 1М буфера глицин-NaOH (pH 8,5–8,8) и 2М NaCl до конечной концентрации 0,15М. Затем 1 мг антител к аннексину V добавляли к латексу и смесь инкубировали при 40°C в течение 40–50 мин. Затем смесь инкубировали в течение ночи при 4°C. Далее суспензию центрифугиро-

Таблица 2

Анализ аннексина V в сыворотке больных некоторыми видами рака ( $p < 0,01$ )

Тип опухоли	Число больных	Положительная реакция	Отрицательная реакция
Рак молочной железы	20	20 (2–3 мин)	0
Рак простаты	30	30 (1–2 мин)	0
Множественная миелома	30	26 (0,5–1 мин)	4
Рак яичников	12	4 (3 мин)	8

вали при 5000 g в течение 10 мин. Осадок суспендировали в 0,1 М буфере глицин-NaOH, содержащей 0,15М NaCl и повторно центрифугировали для удаления несвязавшихся антител. Наконец, латекс суспендировали в 10 мл этого же буфера и в суспензию добавляли бычий сывороточный альбумин и азид натрия до конечной концентрации 0,1%.

**Анализ.** 50 мкл сенсибилизированного латекса смешивали с одинаковым количеством сыворотки на стеклянной пластине. Наличие аннексина V в сыворотке приводило к агглютинации латексных частиц.

**Результаты и обсуждение.** Так как некоторые опухолевые маркеры являются также белками, связанными с беременностью, на первом этапе наших исследований мы попробовали детектировать аннексин V в сыворотке беременных женщин на разных стадиях беременности. В табл. 1 представлены результаты этих исследований.

Несмотря на то что метод позволяет обнаружить аннексин V на всех стадиях беременности, надо отметить, что концентрация белка намного выше на начальных стадиях беременности. Поскольку аналогичная корреляция наблюдается и в случае хорионического гонадотропина и  $\alpha$ -фетопротеина, то можно предположить, что аннексин V является важным белком, участвующим в процессах формирования органов и в клеточной дифференциации. Этим методом аннексин V не обнаруживался в нормальной донорской сыворотке и материнской сыворотке после рождения ребенка.

Далее мы применили этот метод для обнаружения аннексина V в сыворотке некоторых больных раком. Были исследованы четыре типа рака: множественная миелома, рак яичника, молочной железы и простаты. Методом латексной агглютинации были исследованы сыворотки крови 20 больных раком молочной железы, 30 больных раком простаты, 30 больных с множественной миеломой и 12 больных раком яичников. Результаты представлены в табл. 2.

Полученные результаты демонстрируют, что аннексин V выявляется в сыворотке крови всех больных раком молочной железы и простаты. Во многих случаях множественной миеломы у больных также обнаруживался этот белок. С другой стороны, аннексин V был обнаружен в сыворотке крови только у одной трети больных раком яичников.

Полученные данные показывают, что аннексин V обнаруживается в исследованных типах рака с разной специфичностью. Максимальную специфичность обнаруживали в случаях рака груди и простаты, тогда как только 30% больных раком яичников дали положительный результат на присутствие аннексина V. Однако надо учитывать тот факт, что используемые в настоящее время раковые маркеры не являются достаточно специфичными, в частности уровень СА-549 значительно увеличивается только у 50% больных. Аналогичные ситуации наблюдаются также для СА-125 и простатспецифического антигена. Поэтому высокие значения опухолевого маркера, в данном случае СА-125, не означают, что все эти больные на самом деле имеют опухоль яичников и, следовательно, 30% детекции для рака яичников не обязательно может означать низкую специфичность. Хотя представленные данные не демонстрируют, что аннексин V является аб-

солютно специфичным фактором для детекции указанных видов опухолей, этот тест может быть очень полезным и экономически оправданным в скрининговых процедурах. При этом положительные результаты должны предполагать дальнейший более тщательный анализ для более специфической диагностики.

Аннексин V обнаруживается в крови больных некоторыми типами рака и при беременности. Рассматривается возможность применения этого белка как маркера в скрининговых тестах рака.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology*. 2007; 18 (2): 581–92.
2. Sell S., Becker F.F., Leffert H.L., Watabe H. Expression of an oncodevelopmental gene product ( $\alpha$ -fetoprotein) during fetal development and adult oncogenesis. *Cancer Res.* 1976; 36 (11): 4239–49.
3. McIntire K.R., Waldmann T.A., Moertel C.G. Serum  $\alpha$ -fetoprotein in patients with neoplasms of the gastrointestinal tract. *Cancer Res.* 1975; 35 (4): 991–6.
4. Waldmann T.A., McIntire K. The use of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein in the diagnosis of malignancy. *Cancer*. 1974; 34 (Suppl. S4): 1510–5.
5. Stenman U.H., Alfthan H., Hotakainen K. Human chorionic gonadotropin in cancer. *Clin. Biochem.* 2004; 37 (7): 549–61.
6. Stamey T.A., Yang N., Hay A.R., McNeal J.E., Freiha F.S., Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N. Engl. J. Med.* 1987; 15 (317): 909–16.
7. Del Villano B.C., Brennan S., Brock P., Bucher C., Liu V., McClure M. et al. Radioimmunoassay for a monoclonal antibody-defined tumor marker CA-19-9. *Clin. Chem.* 1983; 29 (3): 549–52.
8. Shahl C.A., Lowe K.A., Paley P., Wallace E., Anderson G.L., McIntosh M.W. et al. Influence of ovarian cancer risk status on the diagnostic performance of the serum, biomarkers Mesothelin, HE4, and CA125. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009; 18 (5): 1365–72.
9. Gold P., Freedman S.O. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp. Med.* 1965 (3); 122: 467–81.
10. Pearson G., Freeman G. Evidence suggesting a relationship between polyoma virus-induced transplantation antigens and normal embryonic antigen. *Cancer Res.* 1968; 28 (9): 1665–73.
11. Stonehill E.H., Bendich A. Retrogenetic expression: the reappearance of embryonal antigens in cancer cells. *Nature*. 1970; 228 (5269): 370–2.
12. Wang M. Delayed hypersensitivity to extracts from primary sarcoma in the autochthonous host. *Int. J. Cancer*. 1968; 3 (4): 483–90.
13. Korhonen J., Stenman U.H., Ylöstalo P. Serum human chorionic gonadotropin dynamics during spontaneous resolution of ectopic pregnancy. *Fertility and Sterility*. 1994; 61 (4): 632–6.
14. Funakoshi T., Heimark R.L., Hendrickson L.E., McMullen B.A., Fujikawa K. Human placental anticoagulant protein: isolation and characterization. *Biochemistry*. 1987; 26 (17): 5572–8.
15. Ghislat G., Aguado C., Knecht E. Annexin A5 stimulates autophagy and inhibits endocytosis. *J. Cell Sci.* 2012; 125 (1): 92–107.
16. Rosenbaum S., Kreft S., Etich J., Frie C., Stermann J., Grskovic I. et al. Identification of novel binding partners (annexins) for the cell death signal phosphatidylserine and definition of their recognition motif. *J. Biol. Chem.* 2011; 286 (7): 5708–16.
17. Thippadey K., Langenbach S.Y., Schuliga M., Harris T., Johnstone C.N., Anderson R.L. et al. Annexin-1 signals mitogen-stimulated breast tumor cell proliferation by activation of the formyl peptide receptors (FPRs) 1 and 2. *FASEB J.* 2011; 25 (2): 483–96.
18. Ohno Y., Izumi M.I., Kawamura T.I., Nishimura T., Mukai K., Tachibana M. Annexin II represents metastatic potential in clear-cell renal cell carcinoma. *Br. J. Cancer*. 2009; 101 (3): 287–94.
19. Scannell M., Flanagan B., deStefani A., Wynne K.J., Cagney G., Godson C. et al. Annexin-1 and peptide derivatives are released by apoptotic cells and stimulate phagocytosis of apoptotic neutrophils by macrophages. *J. Immunol.* 2007; 178 (7): 4595–605.
20. McNeil A.K., Rescher U., Gerke V., McNeil P.L. Requirement for annexin A1 in plasma membrane repair. *J. Biol. Chem.* 2006; 281 (6): 35 202–7.
21. Nedjadi T., Kitteringham N., Campbell F.I., Jenkins R.E., Park B.K., Navarro P. et al. S100A6 binds to annexin 2 in pancreatic cancer cells and promotes pancreatic cancer cell motility. *Br. J. Cancer*. 2009; 101: 1145–54.
22. Bray K.R., Koda J.E., Gaur P.K. Serum levels and biochemical characteristics of cancer-associated antigen CA-549, a circulating breast cancer marker. *Cancer Research*. 1987; 47 (22): 5853–60.
23. Visintin I., Feng Z., Longton G., Ward D.C., Alvero A.B., Lai Y. et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (4): 1065–72.
24. Mikaelyan M.V., Poghosyan G.G., Gasparyan V.K. Rapid purification of Annexin V from human placenta by affinity chromatography. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2008; 30 (2): 152–7.
25. Davis B. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1964; 121: 404–27.
26. Fischer E.A. Periodate oxidation. In: Dean P.D.G., Johnson W.S., Middle F.A., eds. *Affinity Chromatography*. Oxford-Washington DC: IRL Press; 1985: 62–5.
27. Friemel H. Isolation of Ig G from rabbit serum, In: Friemel H. ed. *Immunologischen Arbeitsmethoden*, Rostock: Veb Gustav Fischer Verlag Jena; 1984: 381–2.
28. Ouchterlony O. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. In: Weir D.M., ed. *Handbook of experimental immunology*. Oxford and Edinburgh; 1967: 655–706.

## REFERENCES

1. Ferlay J., Autier P., Boniol M., Heanue M., Colombet M., Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology*. 2007; 18 (2): 581–92.
2. Sell S., Becker F.F., Leffert H.L., Watabe H. Expression of an oncodevelopmental gene product ( $\alpha$ -fetoprotein) during fetal development and adult oncogenesis. *Cancer Res.* 1976; 36 (11): 4239–49.
3. McIntire K.R., Waldmann T.A., Moertel C.G. Serum  $\alpha$ -fetoprotein in patients with neoplasms of the gastrointestinal tract. *Cancer Res.* 1975; 35 (4): 991–6.
4. Waldmann T.A., McIntire K. The use of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein in the diagnosis of malignancy. *Cancer*. 1974; 34 (Suppl. S4): 1510–5.
5. Stenman U.H., Alfthan H., Hotakainen K. Human chorionic gonadotropin in cancer. *Clin. Biochem.* 2004; 37 (7): 549–61.
6. Stamey T.A., Yang N., Hay A.R., McNeal J.E., Freiha F.S., Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N. Engl. J. Med.* 1987; 15 (317): 909–16.
7. Del Villano B.C., Brennan S., Brock P., Bucher C., Liu V., McClure M. et al. Radioimmunoassay for a monoclonal antibody-defined tumor marker CA-19-9. *Clin. Chem.* 1983; 29 (3): 549–52.
8. Shahl C.A., Lowe K.A., Paley P., Wallace E., Anderson G.L., McIntosh M.W. et al. Influence of ovarian cancer risk status on the diagnostic performance of the serum, biomarkers Mesothelin, HE4, and CA125. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2009; 18 (5): 1365–72.
9. Gold P., Freedman S.O. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J. Exp. Med.* 1965 (3); 122: 467–81.
10. Pearson G., Freeman G. Evidence suggesting a relationship between polyoma virus-induced transplantation antigens and normal embryonic antigen. *Cancer Res.* 1968; 28 (9): 1665–73.
11. Stonehill E.H., Bendich A. Retrogenetic expression: the reappearance of embryonal antigens in cancer cells. *Nature*. 1970; 228 (5269): 370–2.
12. Wang M. Delayed hypersensitivity to extracts from primary sarcoma in the autochthonous host. *Int. J. Cancer*. 1968; 3 (4): 483–90.
13. Korhonen J., Stenman U.H., Ylöstalo P. Serum human chorionic gonadotropin dynamics during spontaneous resolution of ectopic pregnancy. *Fertility and Sterility*. 1994; 61 (4): 632–6.
14. Funakoshi T., Heimark R.L., Hendrickson L.E., McMullen B.A., Fujikawa K. Human placental anticoagulant protein: isolation and characterization. *Biochemistry*. 1987; 26 (17): 5572–8.
15. Ghislat G., Aguado C., Knecht E. Annexin A5 stimulates autophagy and inhibits endocytosis. *J. Cell Sci.* 2012; 125 (1): 92–107.
16. Rosenbaum S., Kreft S., Etich J., Frie C., Stermann J., Grskovic I. et al. Identification of novel binding partners (annexins) for the cell death signal phosphatidylserine and definition of their recognition motif. *J. Biol. Chem.* 2011; 286 (7): 5708–16.
17. Thippadey K., Langenbach S.Y., Schuliga M., Harris T., Johnstone C.N., Anderson R.L. et al. Annexin-1 signals mitogen-stimulated breast tumor cell proliferation by activation of the formyl peptide receptors (FPRs) 1 and 2. *FASEB J.* 2011; 25 (2): 483–96.
18. Ohno Y., Izumi M.I., Kawamura T.I., Nishimura T., Mukai K., Tachibana M. Annexin II represents metastatic potential in clear-cell renal cell carcinoma. *Br. J. Cancer*. 2009; 101 (3): 287–94.
19. Scannell M., Flanagan B., deStefani A., Wynne K.J., Cagney G., Godson C. et al. Annexin-1 and peptide derivatives are released by apoptotic cells and stimulate phagocytosis of apoptotic neutrophils by macrophages. *J. Immunol.* 2007; 178 (7): 4595–605.

20. McNeil A.K., Rescher U., Gerke V., McNeil P.L. Requirement for annexin A1 in plasma membrane repair. *J. Biol. Chem.* 2006; 281 (6): 35 202–7.
21. Nedjadi T., Kitteringham N., Campbell F.I., Jenkins R.E., Park B.K., Navarro P. et al. S100A6 binds to annexin 2 in pancreatic cancer cells and promotes pancreatic cancer cell motility. *Br. J. Cancer.* 2009; 101: 1145–54.
22. Bray K.R., Koda J.E., Gaur P.K. Serum levels and biochemical characteristics of cancer-associated antigen CA-549, a circulating breast cancer marker. *Cancer Research.* 1987; 47 (22): 5853–60.
23. Visintin I., Feng Z., Longton G., Ward D.C., Alvero A.B., Lai Y. et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (4): 1065–72.
24. Mikaelyan M.V., Poghosyan G.G., Gasparyan V.K. Rapid purification of Annexin V from human placenta by affinity chromatography. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2008; 30 (2): 152–7.
25. Davis B. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1964; 121: 404–27.
26. Fischer E.A. Periodate oxidation. In: Dean P.D.G., Johnson W.S., Middle F.A., eds. *Affinity Chromatography*. Oxford-Washington DC: IRL Press; 1985: 62–5.
27. Friemel H. Isolation of Ig G from rabbit serum, In: Friemel H. ed. *Immunologischen Arbeitsmethoden*, Rostock: Veb Gustav Fischer Verlag Jena; 1984: 381–2.
28. Uchterlony O. Immunodiffusion and immunoelectrophoresis. In: Weir D.M., ed. *Handbook of experimental immunology*. Oxford and Edinburgh; 1967: 655–706.

Поступила 26.08.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.71/74-053.1-053.2-092:612.015.3.018.2

Т.А. Галятина<sup>1</sup>, И.М. Устьянцева<sup>1</sup>, О.И. Хохлова<sup>1</sup>

## ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ДЕТЕЙ

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное лечебно-профилактическое учреждение «Научно-клинический центр охраны здоровья шахтеров», Кемеровская область, г. Ленинск-Кузнецкий, Россия

В работе представлены результаты оценки клинико-патогенетической значимости гормонов, маркеров костного метаболизма и показателей минерального обмена в формировании врожденной патологии опорно-двигательного аппарата у детей. Обследовано 29 детей с дисплазией и деформацией нижних конечностей, а также 35 детей без патологии опорно-двигательного аппарата в возрасте от 6 до 12 лет. Установлены сывороточные уровни паратгормона, кальцитонина и 25(OH)-D<sub>3</sub> при помощи аналитической модульной платформы Cobas 6000 SWA («Roche Diagnostics», Швейцария), а также содержание соматотропного гормона в сыворотке крови на анализаторе Immulite One (США). Произведено однократное исследование сывороточных концентраций общего и ионизированного кальция, фосфора, магния и активности щелочной фосфатазы на автоматических анализаторах Cobas 6000 SWA («Roche Diagnostics», Швейцария) и HITACHI-912 («Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN», США). Активность процесса формирования и резорбции костной ткани оценивали по содержанию в сыворотке крови PINP (N-terminal propeptid of type I collagen), остеокальцина и β-CrossLaps (β-isomerized carboxy-terminal cross-linking region of collagen type I) на модульной платформе Cobas 6000 SWA («Roche Diagnostics», Швейцария). Изучение корреляционных взаимосвязей между количественными показателями костного метаболизма и уровнями регуляторных гормонов у детей с врожденной патологией опорно-двигательного аппарата позволило прояснить возможные аспекты патогенеза нарушений костного ремоделирования вследствие индукции синтеза соматотропного гормона и паратгормона. В результате комплексного разнонаправленного влияния данных гормонов происходит разобщение процессов синтеза и резорбции костной ткани на фоне общего замедления костного ремоделирования, что, по-видимому, способствует возникновению дисплазии и деформации костного скелета.

Ключевые слова: паратгормон; соматотропный гормон; ремоделирование костной ткани.

T.A. Galiyatina, I.M. Ustiyantseva, O.I. Khokhlova

### THE CHARACTERISTICS OF REGULATION OF BONE REMODELING UNDER INHERENT PATHOLOGY OF LOCOMOTIVE SYSTEM IN CHILDREN

The article presents the results of evaluation of clinical pathogenic value of hormones, markers of metabolism and indicators of mineral metabolism in formation of inherent pathology of locomotive system in children. The sampling included 29 children with dysplasia and deformation of lower extremities and 35 children without pathology of locomotive system. All children aged from 6 to 12 years. The serum levels of parathormone, calcitonin and 25(OH)-D<sub>3</sub> were established using analytic module platform «Cobas 6000 SWA» (Roche Diagnostics, Switzerland). The content of somatotrophic hormone in blood serum was evaluated using analyzer «Immunit One» (USA). The single examination of serum concentrations of total and ionized calcium, phosphorus, magnesium and activity of alkaline phosphatase was implemented using automatic analyzer «Cobas 6000 SWA» (Roche Diagnostics, Switzerland) and «HITACHI-912» (Roche Diagnostics corporation, Indianapolis, IN, USA). The activity of process of formation of and resorption of bone tissue was evaluated according content of PINP (N-terminal propeptid of type I collagen), osteocalcin and β-CrossLaps (β-isomerized carboxy-terminal cross-linking region of collagen type I) in blood serum. The module platform «Cobas 6000 SWA» (Roche Diagnostics, Switzerland) was used. The analysis of correlation interrelationships between qualitative indicators of bone metabolism and levels of regulative hormones in children with inherent pathology of locomotive system made it possible to clarify possible aspects of pathogenesis of disorders of bone remodeling as a result of induction of synthesis of somatotrophic hormone and parathormone. The complex multi directional impact of these hormones results in uncoupling of synthesis processes and bone tissue resorption against the background of total slowing-down of bone remodeling. These occurrences apparently promote formation of dysplasia and deformation of bone skeleton.

Key words: parathormone; somatotrophic hormone; remodeling; bone tissue.