

А. Ф. МАЛЕНЧЕНКО<sup>1</sup>, В. Н. БЕЛЯКОВСКИЙ<sup>2</sup>, Н. Д. ЛУКОВСКАЯ<sup>1</sup>,  
Т. И. ПРИГОЖАЯ<sup>2</sup>, С. В. СТАСЕНКОВА<sup>2</sup>

## СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА У ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель.

<sup>2</sup>Гомельский областной клинический онкодиспансер, Беларусь

(Поступила в редакцию 20.03.2009)

**Введение.** Течение опухолевого процесса сопровождается развитием синдрома эндогенной интоксикации, который обусловлен как образованием и циркуляцией в крови продуктов метаболизма самой опухоли, так и применяемыми методами лечения [1].

Основными системами связывания и транспорта веществ различной химической природы в организме являются иммунные антитела, буферные системы, форменные элементы крови, плазменные белки. Доминирующее положение среди них занимает сывороточный альбумин.

Альбумин, являясь одной из основных внеклеточных транспортных систем организма, с высоким сродством связывает на своей поверхности токсичные гидрофобные соединения и препятствует генерализации процесса интоксикации [2]. Благодаря особенностям строения молекулы (подвижность составляющих звеньев, наличие множества центров связывания) и высокой концентрации в крови альбумин является первым барьером для экзо- и эндотоксинов, которые поражают клеточные элементы различных тканей [3].

Нарушение структурной организации и функциональной активности молекулы сывороточного альбумина приводит к изменению объема транспорта различных метаболитов и в первую очередь жирных кислот, что является важным звеном перестройки энергетического метаболизма в процессе опухолевого роста. Количественное определение связывающей способности и функциональной активности молекул белка является адекватным показателем степени выраженности синдрома эндогенной интоксикации и контролем эффективности корригирующей детоксикационной терапии [2].

В онкологической практике большое значение имеет определение уровня сывороточного альбумина, так как данный белок относится к группе негативных реактантов острой фазы, содержание которых снижается при развитии воспаления. Однако при тяжелой эндогенной интоксикации, свойственной раковым и гнойно-септическим заболеваниям, активные центры альбумина могут блокироваться лигандами с изменением физико-химических характеристик молекулы. Поэтому особое значение приобретает метод, позволяющий судить о количественной и функциональной активности альбумина [4].

В настоящее время лабораторная диагностика эндогенной интоксикации (ЭИ) основана преимущественно на определении уровня токсемии – концентрации мочевины, билирубина, креатинина и других соединений. Данные показатели, определяемые в клинике, характеризуют начальную фазу ЭИ только при локализации первичного очага в печени или почках. Во всех остальных случаях увеличение содержания токсинов свидетельствует о развитии почечно-печеночной недостаточности, возникающей на поздних стадиях интоксикации организма.

Достаточно универсальным показателем ЭИ считается определение содержания молекул со средней массой, но и этот метод определяет только те токсины, которые относятся к водорастворимым соединениям. Однако наиболее опасными являются токсины, обладающие гидрофобными свойствами. Они значительно быстрее проникают через клеточные мембраны, модифици-

руют структуру их внутриклеточных белков, повышая мембранную проницаемость, и ингибируют ферментативную активность клетки. Поэтому связывание гидрофобных токсинов альбумином можно рассматривать как важный механизм детоксикации организма, который обеспечивает многократное снижение свободной концентрации токсинов и последующую их транспортировку в печень для детоксикации и элиминации [4].

Молекулярные механизмы комплексообразования, транспорта и передачи сопровождаются конформационными изменениями белка. Физические методы оценки конформационной перестройки молекулы, такие как электронный парамагнитный резонанс, дороги, трудоемки и недоступны для клинических исследований [5]. В последние годы разработан флуоресцентный метод определения состояния связывающих центров альбумина в сыворотке, позволяющий косвенно оценить степень конформационной перестройки молекулы альбумина [6]. Метод легко выполним и хорошо воспроизводим в условиях клинико-диагностической лаборатории.

Как свидетельствуют литературные данные [4, 6–14], определение альбуминовых показателей у больных позволяет оценить не только количество молекул, но и структурно-функциональные свойства сывороточного альбумина на всех этапах диагностического и лечебного процессов.

Цель работы – анализ структурно-функциональных изменений сывороточного альбумина у онкогинекологических больных, проходивших расщепленный и нерасщепленный курсы лучевой терапии.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служила сыворотка крови 28 женщин: 13 здоровых (контроль); 11 онкогинекологических больных с диагнозом «рак шейки матки», проходивших расщепленный курс лучевой терапии (первый этап – 30 Гр, с перерывом в 3 недели проводился второй этап – 20 Гр; средняя продолжительность одного этапа – 22,4 сут), и 4 пациенток с аналогичным диагнозом, проходивших нерасщепленный курс лучевой терапии (40 Гр, средняя продолжительность лечения – 43,7 сут). Разделение больных на группы с разным курсом лучевой терапии осуществлялось в зависимости от индивидуальной чувствительности.

У обследуемых пациентов в венозной крови (параллельно с другими биохимическими параметрами гомеостаза) с помощью наборов реактивов «ЗОНД-Альбумин» (НИМВЦ «Зонд», Москва) на спектрофлуориметре CM 2203 Solar по стандартной методике определяли показатели: общую концентрацию альбумина (ОКА – количество молекул альбумина, способных связывать токсические лиганды, равно концентрации альбумина, определенной любым другим способом) и эффективную концентрацию альбумина (ЭКА – количество незанятых токсическими лигандами центров связывания альбумина) [6].

Дополнительно рассчитывали относительные величины: резерв связывания альбумина (РСА = ЭКА/ОКА·100%), отражающий степень структурной модификации белка, и индекс токсичности (ИТ = ОКА/ЭКА–1), характеризующий заполнение альбуминовых центров токсичными лигандами.

Анализ полученных данных проводили с использованием программы GraphPad Prizm 4.0. Статистическая обработка выполнена с применением критерия Стьюдента (*t*-тест) при уровнях значимости  $P < 0,05$  и  $P < 0,01$ . Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартное отклонение ( $M \pm m$ ).

**Результаты и их обсуждение.** В ходе проведенного исследования установлено, что общая концентрация альбумина у здоровых лиц и у онкобольных при поступлении на стационарное лечение находилась в пределах нормальных значений (см. таблицу).

**Показатели ЭКА, ОКА, РСА и ИТ  
в сыворотке крови здоровых лиц и онкогинекологических больных**

Показатель	Здоровые лица ( <i>n</i> = 13)	Онкогинекологические больные, проходившие расщепленный курс лучевой терапии ( <i>n</i> = 11)				Онкогинекологические больные, проходившие нерасщепленный курс лучевой терапии ( <i>n</i> = 4)	
		поступление на 1-й этап	выписка	поступление на 2-й этап	выписка	поступление	выписка
ОКА, г/л	49,21±1,37	50,63±2,17	49,11±3,00	50,05±2,16	55,48±2,51*	51,80±5,55	55,57±4,59
ЭКА, г/л	46,68±1,19	35,87±2,77**	30,44±3,00**	32,29±1,36**	34,39±1,97**	33,40±3,28**	33,25±8,14*
РСА, %	95,06±1,27	71,02±4,89**	60,91±4,03**	65,23±2,88**	62,84±3,98**	64,80±2,81**	58,10±9,62*
ИТ, отн. ед.	0,05±0,01	0,48±0,10**	0,72±0,13**	0,56±0,07**	0,66±0,14**	0,55±0,06**	0,86±0,29**

Примечание. Достоверность показателей при сравнении с группой здоровых лиц: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ .

При анализе значений ЭКА в группе здоровых лиц данный показатель составил 46,68 г/л, у больных при поступлении на расщепленный курс терапии он статистически достоверно снизился до 35,87 г/л, при поступлении на нерасщепленный курс – до 33,40 г/л.

У здоровых лиц значения ЭКА были близки к значениям ОКА, а у больных величина ЭКА оказывалась, как правило, ниже ОКА. Значения ИТ у здоровых лиц были близки к нулю, но по мере усиления интоксикации они возрастали. Следовательно, снижение ЭКА по сравнению с ОКА в группе больных говорит об исходном уровне заполнения центров связывания альбумина лигандами. Последнее подтверждается данными ИТ: у здоровых лиц – 0,05, у больных – 0,48 при поступлении на расщепленный курс и 0,55 при поступлении на нерасщепленный курс. Увеличение ИТ в 10 раз свидетельствует о наличии в крови больных большого количества токсинов, являющихся продуктами метаболизма самой опухоли и подлежащих детоксикации.

Значения РСА у здоровых лиц составляли 95,06%, а у онкобольных – 71,02% при поступлении на расщепленный курс терапии и 64,80% при поступлении на нерасщепленный курс. Следовательно, при данной патологии степень модификации молекулы альбумина в организме человека может возрастать во много раз. Одна из гипотез, объясняющая подобное поведение молекулы альбумина, заключается в том, что конформационная перестройка данного белка является компенсаторной реакцией, направленной на минимизацию патологического процесса.

Структурно-функциональные изменения альбумина при онкологических заболеваниях, определенные флуориметрически, согласуются с данными других современных методов. Так, при ЭПР-спектроскопии установлено, что у онкобольных изменена стереохимия центров связывания молекулы сывороточного альбумина [4].

В данной работе также показано, что изменение физико-химических свойств сывороточного альбумина при раке обусловлено как самим фактором формирования опухоли в организме, так и воздействием комплекса альбумин + продукты клеточного метаболизма.

По завершении лечения у больных, проходивших расщепленный курс лучевой терапии, значения показателей следующие: ОКА статистически достоверно увеличилась до 55,48 г/л; ЭКА сохранилась практически на прежнем уровне и к окончанию второго этапа составила 34,39 г/л; ИТ = 0,72 после первого этапа лечения, а после второго увеличился от 0,56 до 0,66 (рис. 1, 2).

У больных, проходивших нерасщепленный курс, ЭКА = 33,25 г/л, а ИТ увеличился на 56,3% и составил 0,86. Что касается ОКА, то значения данного показателя не имели достоверных различий до и после курса (рис. 3, 4). Возможно, высокий уровень цитокинов, участвующих в реакциях воспаления во время лучевой терапии, оказывает непосредственное и опосредованное влияние на синтез клетками печени острофазных белков в ущерб альбумину [5].

Можно предположить, что динамические изменения ИТ (0,66 и 0,86) после лечения в группах женщин, проходивших курс лучевой терапии при разных режимах, обусловлены тем, что во время 3-недельного перерыва между двумя этапами расщепленного курса часть имеющихся токсинов выводится из организма. Последнее следует из получен-

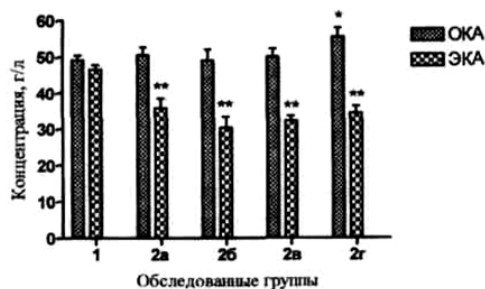


Рис. 1. Показатели ОКА и ЭКА в сыворотке крови: 1 – у здоровых лиц; 2 – у онкогинекологических больных, проходивших расщепленный курс лучевой терапии: 2а – при поступлении на 1-й этап, 2б – при выписке, 2в – при поступлении на 2-й этап, 2г – при выписке. \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$  при сравнении с группой здоровых лиц

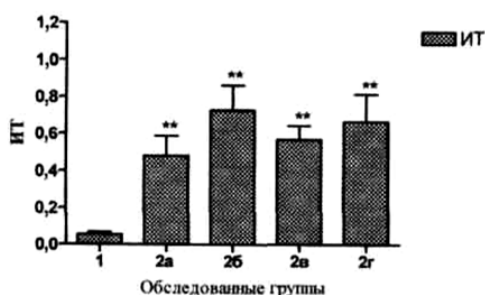


Рис. 2. Показатель ИТ в сыворотке крови. Группы обследованных соответствуют группам на рис. 1. \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$  при сравнении с группой здоровых лиц



Рис. 3. Показатели ОКА и ЭКА в сыворотке крови: 1 – у здоровых лиц; 3 – у онкогинекологических больных, проходивших нерасщепленный курс лучевой терапии: 3а – при поступлении, 3г – при выписке. \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$  при сравнении с группой здоровых лиц

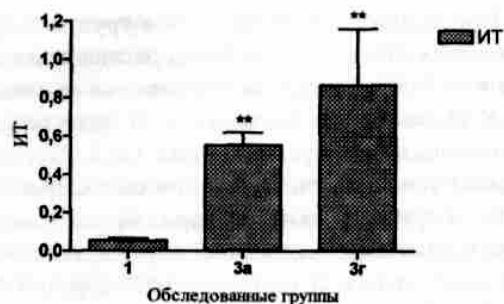


Рис. 4. Показатель ИТ в сыворотке крови обследованных (группы соответствуют группам на рис. 3). \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$  при сравнении с группой здоровых лиц

ных данных: ИТ = 0,72 после первого этапа расщепленного курса и ИТ = 0,56 при поступлении на второй этап.

Таким образом, флуоресцентный метод изучения альбуминовых показателей, характеризующих состояние центров связывания сывороточного альбумина, отражает тяжесть эндогенной интоксикации и позволяет оценить степень ее выраженности в процессе лучевой терапии.

Полученные результаты не только представляют научный и практический интерес, но и определяют перспективу дальнейших исследований альбуминовых показателей как диагностического порогового критерия субклинических повреждений тканей органов при лучевой терапии для своевременного предупреждения развития клиники лучевых осложнений.

### Выводы

1. Общая концентрация сывороточного альбумина у здоровых лиц и у онкологических больных находится в пределах нормальных значений.
2. Показатели эффективной концентрации альбумина и индекса токсичности онкогинекологических больных статистически достоверно отличаются при сравнении с таковыми в контрольной группе. Это позволяет судить о динамике поступления и элиминации из крови метаболитов, образующихся в ходе проведения курса лучевой терапии при разных режимах.
3. Проведение курсов лучевой терапии, как расщепленного, так и нерасщепленного, способствует повышению значений индекса токсичности. Выраженность биологического эффекта определяется дозой облучения.

### Литература

1. Смолякова Р. М., Прохорова В. И., Машевский А. А. и др. // Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии: сб. науч. тр. Минск, 1997. С. 53–61.
2. Смолякова Р. М., Прохорова В. И., Жарков В. В. и др. // Новости хирургии. 2005. Т. 13, № 1. С. 78–84.
3. Цырусь Т. П. // Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии: сб. науч. тр. Минск, 2001. С. 57–66.
4. Афанасьева А. Н., Евтушенко В. А. // Анестезиология и реаниматология. 2004. № 6. С. 64–67.
5. Афанасьева А. Н., Евтушенко В. А. // Рос. онкол. журн. 2006. № 2. С. 41–44.
6. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Под ред. Ю. А. Грызунова, Д. Е. Добрецова. М., 1994.
7. Смолякова Р. М. // Здоровоохранение. 1998. № 11. С. 17–20.
8. Прохорова В. И., Цырусь Т. П., Пашко Л. И. и др. // Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии: сб. науч. тр. Минск, 2000. С. 117–121.
9. Смолякова Р. М. Изменения физико-химических характеристик конформационного состояния сывороточного альбумина и их клиническое значение у больных раком легкого: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Минск, 1999.
10. Гаврилов В. Б., Бидула М. М., Фурманчик Д. А. и др. // Клиническая диагностика. 1999. № 2. С. 13–17.

