

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

¹ Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель,

² Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь

(Поступила в редакцию 30.11.2007)

Введение. Демографические показатели являются одной из составляющих национальной безопасности республики. Основным акцент этой проблемы сфокусирован на соотношении рождаемости и смертности, так как это определяет темпы роста (или снижения) формирования трудовых ресурсов общества, в первую очередь доли трудоспособной части в общей возрастной структуре населения. Если рассматривать демографическую проблему в широком смысле, то ее, безусловно, нельзя ограничивать только количественным соотношением рождаемости и смертности. Не меньшее значение имеет и качество потомства.

В решении этой проблемы одна из ведущих ролей отводится состоянию здоровья беременных женщин. Гестоз занимает 2–3-е место в структуре материнской смертности. Патогенез данного заболевания окончательно не выяснен. Существует около 30 теорий, объясняющих механизм развития этого синдрома полиорганной функциональной недостаточности [1].

По данным отчетов родовспомогательных учреждений Беларуси (форма № 32 Государственной статистической отчетности), если на протяжении 1981–1988 гг. эта патология регистрировалась у 3,7–4,3% рожениц, то с 1989 г. наблюдался ее постоянный рост (в среднем в 1,1–1,2 раза ежегодно) и в 1997 г. она достигла 11,2%. Наиболее показательна частота тяжелых форм гестоза – эклампсии и преэклампсии. В 1997 г. в Гомельской области их частота увеличилась в 2,4 раза, а в Могилевской области и г. Минске она была в 1,5–1,6 раза выше, чем в среднем по республике. В то же время в «условно чистых» регионах (Гродненская, Витебская и Минская области) частота тяжелых форм позднего гестоза была в 3 раза ниже среднереспубликанского уровня [2].

Одним из наиболее частых осложнений беременности является анемия. С.-М. А. Омаров [3] отмечал, что при анализе материнской смертности независимо от основной причины летального исхода у 2/3 женщин наблюдалась анемия. Ежегодно в Беларуси почти у 31% беременных отмечается эта патология, причем из всех ее видов 95% приходится на железодефицитную анемию (ЖДА) [4]. Наличие у беременных одновременно гестозов и ЖДА встречается в 40% случаев. В эпидемиологии, этиологии и патогенезе данных заболеваний много общего, причем зачастую их сочетание отягощает течение беременности и значительно ухудшает исход родов, вызывая осложнения как у матери, так и у плода [3]. Так, чем тяжелее протекает анемия, тем чаще диагностируются поздние гестозы (до 50%), преждевременные роды (до 11–20%), мертворождаемость (до 3,9%), гипотония матки и слабость родовой деятельности [5].

Большинство исследователей предлагают больше внимания уделять доклинической стадии заболевания – прегестозу. Это необходимо для разработки методов ранней диагностики и профилактики [1]. Так, при отсутствии профилактики в группах риска частота гестозов при родах составила 53,5%, при проведении профилактики перинатальная заболеваемость снизилась до 19,5% [6]. Клиническая картина прегестоза является собирательной и предполагает благоприятный прогноз при обнаружении доступного клинического или лабораторного признака именно на ранних этапах обследования беременной. Прегестоз может не реализоваться в развернутую кар-

тину гестоза, если на ранних этапах начать комплексное лечение с целью усилить адапционно-компенсаторные резервы организма [1].

Высокая частота этой патологии, тяжелые осложнения у матери и плода требуют дальнейшего поиска эффективных методов доклинической диагностики, профилактики и лечения [7]. Учитывая метаболический аспект этого заболевания, существенную роль в его развитии играет сывороточный альбумин. Кровяной и тканевой пулы альбумина обмениваются, и, следовательно, состояние системы альбумина крови в той или иной степени отражает характер метаболических процессов всего организма.

В НИИ физико-химической медицины РФ разработан флуоресцентный метод определения состояния связывающих центров альбумина в сыворотке, позволяющий определять такие показатели, как общая концентрация альбумина (ОКА) и эффективная концентрация альбумина (ЭКА). Метод основан на специфическом взаимодействии флуоресцентного красителя К-35 с альбумином в плазме (сыворотке) крови, что позволяет судить о самой молекуле белка, ее структуре, физико-химическом состоянии центров связывания [8].

Цель работы – доклиническая диагностика гестозов методом флуоресцентной спектроскопии.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служила сыворотка крови 55 женщин: 10 здоровых небеременных, 9 с нормальным течением беременности, 18 с гестозами и 18 с легкой степенью ЖДА.

Сыворотку получали из венозной крови. Анализ проводили в день взятия крови. Во всех пробах с помощью наборов реактивов «ЗОНД-Альбумин» (НИМВЦ «Зонд», Москва) на спектрофлуориметре СМ 2203 Solar по стандартной методике определяли показатели ОКА и ЭКА по соответствующим калибраторам [8].

Дополнительно рассчитывали относительные величины: резерв связывания альбумина (РСА), показывающий связывающую способность белка: $РСА = ЭКА/ОКА \cdot 100\%$; индекс токсичности (ИТ), характеризующий заполнение альбуминовых центров токсичными лигандами: $ИТ = (ОКА/ЭКА) - 1$; ОКА – количество молекул альбумина, способных связывать токсические лиганды (соответствует концентрации альбумина, определенной любым другим способом); ЭКА – количество незанятых токсическими лигандами центров связывания альбумина.

Анализ полученных данных проводили с помощью программ GraphPad Prizm 4,0 и Statistica 6,0. Статистическая обработка выполнена с использованием критерия Стьюдента (*t*-test) при уровне значимости $P < 0,05$ и $P < 0,01$. Данные представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение. В организме взрослого человека концентрация альбумина в крови составляет 35–55 г/л (47–62% от общего белка), у беременных женщин этот уровень несколько снижен (28–40 г/л), так как альбумин используется в качестве «строительного материала» в процессе роста и развития плода [9].

Как видно из представленных данных (табл. 1, рис. 1), у здоровых небеременных и женщин с нормальным течением беременности ОКА находится в пределах нормальных значений. У беременных с гестозами и ЖДА наблюдается снижение данного показателя до нижней границы нормы.

Таблица 1. Показатели ЭКА, ОКА, РСА и ИТ в сыворотке крови беременных

Группа	Показатель							
	ЭКА, г/л		ОКА, г/л		РСА, %		ИТ, отн. ед.	
	диапазон	среднее	диапазон	среднее	диапазон	среднее	диапазон	среднее
Здоровые небеременные женщины (n=10)	38–52	46,62±1,29	38–54	48,84±1,43	87–100	95,61±1,49	0–0,14	0,05±0,02
Женщины с нормальным течением беременности (n=9)	28–40	34,69±1,18**	30–42	37,24±1,32**	87–99	93,3±1,33	0,01–0,14	0,07±0,01
Беременные с гестозами (n=11)	27–38	31,06±0,95**+	29–41	35,16±1,02**	72–100	88,68±2,48*	0–0,4	0,14±0,03*
Беременные с ЖДА (n=18)	18–29	23,56±0,77**++	24–34	30,34±0,71**++	57–93	77,98±2,49**+	0,08–0,74	0,31±0,04*+

Примечание. Достоверность показателей: при сравнении с группой небеременных женщин: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$; при сравнении с группой женщин с нормальным течением беременности: + – $P < 0,05$, ++ – $P < 0,01$.

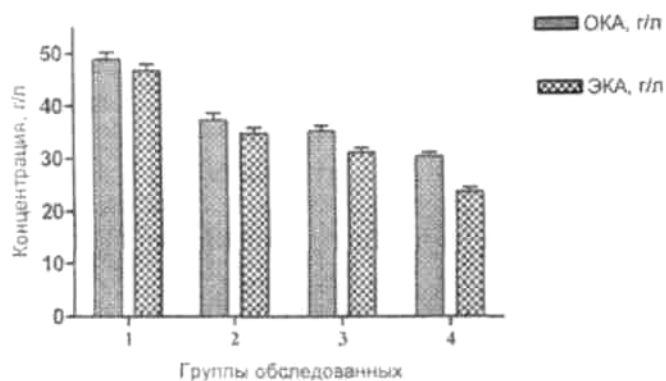


Рис. 1. Показатели ОКА и ЭКА в сыворотке крови женщин. 1 – здоровые небеременные женщины; 2 – женщины с нормальным течением беременности; 3 – беременные с гестозами; 4 – беременные с легкой степенью ЖДА

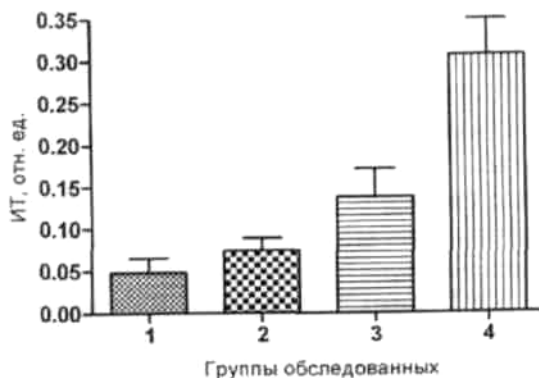


Рис. 2. Показатель ИТ в сыворотке крови женщин. Группы обследованных соответствуют группам на рис. 1

Анализ ЭКА показал, что по мере утяжеления клинического состояния количество полноценно функционирующего белка снижается, что подтверждается величинами РСА и ИТ. Значения ИТ находятся в пределах нормы (0,07) у женщин с нормальным течением беременности, при токсикозах они возрастают до 0,14, а при наличии железодефицитной анемии – до 0,31 (рис. 2).

На рис. 3 представлены гистограммы распределения значений связывающей способности альбумина. Для наибольшего числа здоровых небеременных женщин и женщин с нормальным течением беременности характерны значения РСА в пределах 90–100% (рис. 3, а, б). По мере утяжеления патологического состояния количество обследуемых женщин с пониженными значениями РСА возрастает (рис. 3, в, г).

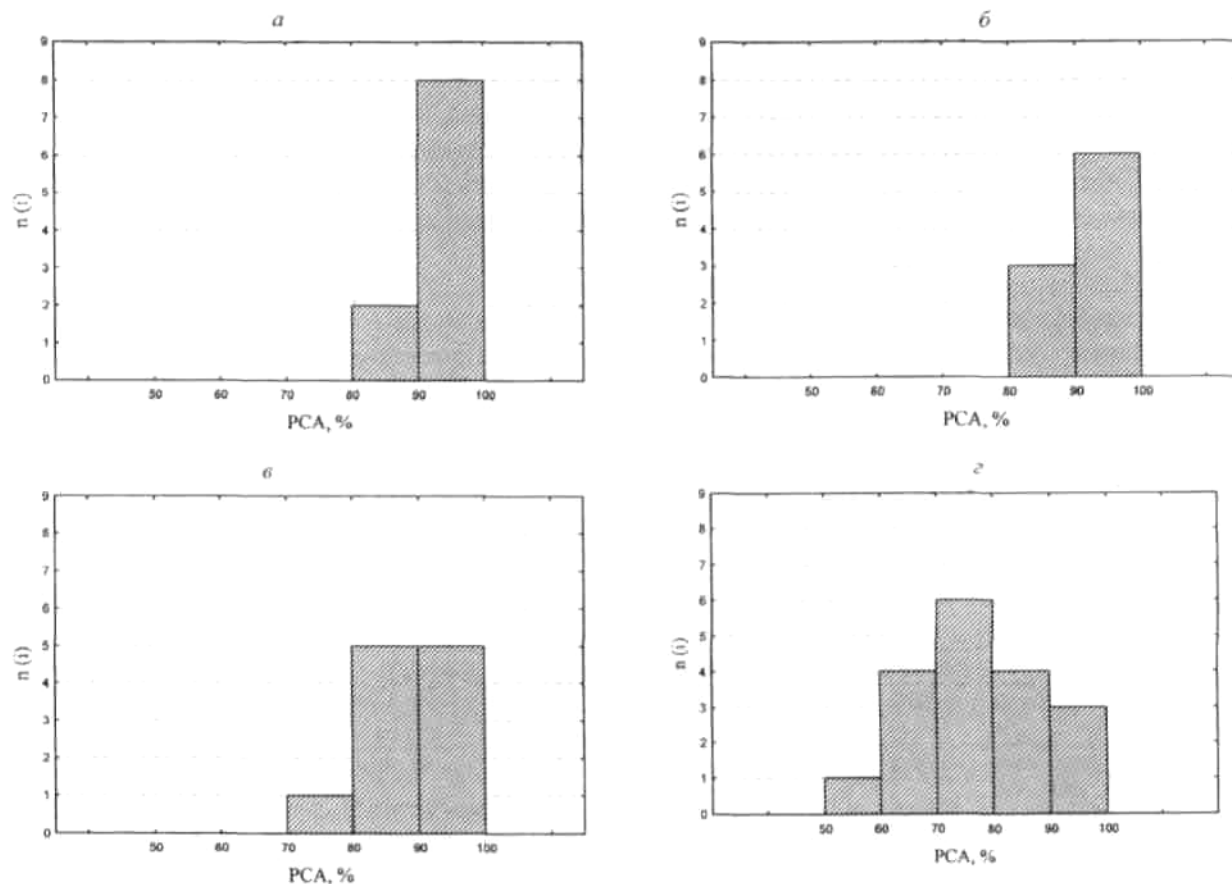


Рис. 3. Гистограммы распределения показателя резерва связывания альбумина. а – здоровые небеременные женщины; б – женщины с нормальным течением беременности; в – беременные с гестозами; г – беременные с легкой степенью ЖДА. n(i) – число женщин с данным значением РСА

При беременности в условиях повышенного уровня метаболических процессов количество продуктов обмена увеличивается. При развитии полиорганной функциональной недостаточности в организме накапливаются эндотоксины, которые способны повреждать мембраны клеток. Одним из универсальных механизмов реакции организма на увеличение концентрации продуктов метаболизма является образование комплексов с молекулой альбумина. Повышенные концентрации токсинов «блокируют» центры связывания на молекуле альбумина, что вызывает изменения его комплексообразующей способности и нарушает транспортную функцию [10]. При этом показатели общей концентрации альбумина находятся в пределах нормы для всех обследованных групп (рис. 1–3), значения ЭКА, РСА и ИТ статистически достоверно отличаются при сравнении групп с наличием клинической патологии с группами здоровых небеременных женщин и женщин с нормальным течением беременности.

Особый интерес представляет группа беременных с гестозами, у которых при снижении уровня ОКА выявлено повышение ЭКА (табл. 2).

Таблица 2. Показатели ЭКА, ОКА, РСА и ИТ в сыворотке крови беременных с гестозами

Обследованные	Показатель	ЭКА, г/л	ОКА, г/л	РСА, %	ИТ, отн. ед.
1		40,87	37,09	110,19	-0,09
2		38,46	37,38	102,89	-0,03
3		33,77	32,16	105,01	-0,05
4		32,35	30,33	106,66	-0,06
5		32,94	28,0	117,64	-0,15
6		34,82	33,99	102,44	-0,02
7		34,9	32,39	107,75	-0,07
В среднем		35,44 ± 1,79	33,05 ± 1,97	107,51 ± 2,76	-0,07 ± 0,02

Альбумин является одним из основных транспортных белков сыворотки крови и представлен большим количеством конформеров, отличающихся по свойствам от нативного белка. Для белковой цепи характерно большое количество пространственных структур: каждый аминокислотный остаток имеет около 10 возможных конформаций, т. е. цепь из 100 остатков включает порядка 10^{100} различных структур. Таким образом, белок принимает «свою» пространственную конформацию из 10^{100} возможных. При этом молекула белка может «почувствовать» стабильность конформации только попав прямо в нее, так как отклонение даже на 0,1 нм может очень сильно повысить энергию цепи в плотной белковой глобуле [11, 12].

Возможно, под действием факторов окружающей среды на начальных стадиях развития патологического процесса для молекулы альбумина выгоднее и быстрее принять одну из множества конформаций, чем сразу отвечать синтезом дополнительных молекул. Как мы полагаем, это имеет место в случае превышения значений ЭКА над значениями ОКА, хотя, по определению, показатели ОКА и ЭКА должны быть одинаковы.

С другой стороны, возможно, наблюдается процесс «развертывания» молекулы альбумина и увеличение количества доступных для зонда центров связывания. Подобное явление было описано в работе Ю. А. Грызунова и др. [8], где при изучении влияния метаболитов на связывание зонда с альбумином наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции зонда К-35 при определении ЭКА, что, по мнению авторов, связано с ростом числа центров связывания в «загруженной» молекуле белка.

Это транзитное состояние (превышение значений ЭКА над значениями ОКА) при беременности может приводить к истощению «резерва» связывания токсических лигандов с последующим снижением величины эффективной концентрации альбумина и развитием эндогенной интоксикации. Если рассматривать эндогенную интоксикацию как составляющую часть болезни, наблюдающуюся в разной степени при всех патологических процессах, то гестоз – патология, развитие которой также включает данный синдром. В этих условиях сывороточный альбумин

с его широким спектром функциональных возможностей можно рассматривать как один из барьеров, препятствующих на ранних этапах развитию патологии и повышающих эффективность связывания и транспорта токсических продуктов обмена в органы детоксикации и выведения – печень и почки.

Таким образом, использование показателя превышения уровня ЭКА над ОКА представляется достаточно перспективным в доклинической диагностике гестоза (прегестоза). При существующем объеме информации его можно рассматривать как одно из проявлений компенсаторной реакции организма на молекулярном уровне. Гетерогенная полифункциональная система сывороточного альбумина, как любая другая функциональная система, находится в состоянии динамического равновесия (ЭКА↔ОКА), осуществляя компенсаторно-приспособительные реакции организма по поддержанию и сохранению гомеостаза.

По мнению Л. И. Трубниковой и др. [13], сложные патогенетические механизмы развития гестоза, связанные с выраженными морфологическими и функциональными изменениями в фетоплацентарной системе и органах матери, могут проявляться в структурировании крови, мочи, состояния околоплодных вод. Возможно, более глубокий анализ структурно-функционального состояния альбумина в жидких средах организма беременных женщин может привести качественно новую информацию в формирование современных представлений о патогенезе гестоза и его лечении.

Выводы

1. Исследование альбуминовых показателей при беременности показало, что общая концентрация сывороточного альбумина находится в пределах нормы для всех обследуемых групп.

2. Флуоресцентным методом выявлены изменения состояния центров связывания сывороточного альбумина при содержании белка в пределах нормы в крови беременных с наличием клинической патологии:

эффективная концентрация альбумина статистически достоверно снижается в группах беременных с гестозами и ЖДА по сравнению как с группой здоровых небеременных женщин, так и с группой женщин с нормальным течением беременности;

резерв связывания альбумина достоверно уменьшается в группах беременных с гестозами и ЖДА;

индекс токсичности близок к нулю у беременных с нормальным течением беременности и возрастает при гестозах в 2 раза, у беременных с ЖДА – в 4,5 раза.

3. Показатель ЭКА, на основании которого рассчитывают значения РСА и ИТ, является весьма информативным и может быть использован как маркер развития патологических процессов при беременности.

Литература

1. Колгушкина Т. Н., Шостак В. А., Кирдик В. Э. // Мед. новости. 2000. № 9. С. 22–36.
2. Сорокина С. Э., Искрицкий А. М. // Мед. новости. 1999. № 4. С. 63–64.
3. Омаров С.-М. А., Омаров Н. С.-М., Абу Насер М. А. и др. // Акушерство и гинекология. 2000. № 5. С. 31–34.
4. Лакотко Н. Н., Смирнова Л. А., Малевич Ю. К. // Акушерство и гинекология. 2002. № 7. С. 57–59.
5. Казакова Л. М. // Мед. помощь. 1993. № 1. С. 15–17.
6. Савельева Г. М., Шагина Р. И. // Акушерство и гинекология. 1998. № 5. С. 6–9.
7. Кулаков В. И., Ходова С. А., Мурашко Л. Е. и др. // Акушерство и гинекология. 1999. № 3. С. 16–19.
8. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Под ред. Ю. А. Грызунова, Д. Е. Добрецова. М., 1994.
9. <http://labnauka.ru>.
10. Громыко Н. Л., Луковская Н. Д., Барановская Е. И. и др. // Актуальные проблемы медицины: материалы 16-й итоговой науч. сессии ГТМУ. 2007. Т. 1. Вып. 7. С. 134–136.
11. Троицкий Г. В., Касымова Г. А., Борисенко С. Н. // Вопр. мед. химии. 1987. Т. 33. Вып. 2. С. 38–40.
12. Финкельштейн А. В., Птицын О. Б. Физика белка. М., 2005.
13. Трубникова Л. И., Шатохина С. Н., Кузнецова Т. В. и др. // Акушерство и гинекология. 2005. № 2. С. 35–39.

N. D. LUKOVSKAYA¹, N. L. GROMYKO², E. I. BARANOVSKAYA², A. F. MALENCHENKO¹

**CLINICAL VALUE OF DETERMINATION OF THE STATE
OF BINDING CENTERS OF SERUM ALBUMIN AT PREGNANCY**

¹ *Institute of Radiobiology of NAS of Belarus, Gomel,*

² *Gomel State Medical University, Belarus*

Summary

The condition of binding centers of serum albumin in women with a normal current of pregnancy and the presence of clinical pathology are analyzed with the use of the method of fluorescent probes.

It is shown that for the content of protein within the norm for all the examined groups, the values of effective concentration, binding reserve and toxicity index of albumin in the groups of pregnant women with pre-eclampsia and iron deficit anemia statistically reliably differ from the control. The obtained data allow considering this test as a criterion for pre-clinical and clinical diagnostics of developing pre-eclampsia.