

ные проблемы ревматологии: Тез. докл. 1 съезда ревматологов России. Оренбург, 1993. С.242-243.

4. Козлов Г.С., Красавина И.Г. Оценка показателей перекисно-антиоксидантного баланса в качестве дополнительных критериев эффективности лечения остеоартроза // Там же. С.263-264.

5. Корочкин И.М., Романова Г.Р., Капустин Г.М. и др. Состояние гемостаза у больных ИБС при лечении низкоэнергетическим гелий-неоновым лазером // Сов. мед. 1984. N 2. С.6-10.

6. Литасова Е.Е., Бельткандер Н.Н., Караськов А.М., Новиков А.И. Применение внутривенного облучения квантовыми генераторами при врожденных пороках сердца, осложненных септическим эндокардитом // Вестник хирургии. 1986. Т.137. N 9. С.11-14.

УДК 547.962.3:612.123:535.37

О.Л.Андреева, Г.Е.Добрецов, Л.Т.Шмелева, Я.Л.Габинский,
Е.Д.Шелягина

НАРУШЕНИЯ ТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ АЛЬБУМИНА И ИХ КОНТРОЛЬ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

Центральная научно-исследовательская лаборатория, НИИ физико-химической медицины, г.Москва, Городской инфарктный центр, г.Екатеринбург

Сывороточный альбумин выполняет в организме транспортные функции, связанные в основном с переносом в крови низкомолекулярных гидрофобных органических соединений типа билирубина, антибиотиков, многих лекарственных соединений и т.д. Сердечно-сосудистые заболевания, в том числе острый инфаркт миокарда (ОИМ), как правило, не сопровождаются значительными нарушениями концентрации альбумина, в отличие, например, от заболеваний печени. Однако было замечено, что при остром инфаркте альбумин в значительной степени теряет способность связывать молекулы красителя конго красного: связывание уменьшалось вдвое [8]. Очевидно, ОИМ может сопровождаться какими-то серьезными изменениями связывающих свойств альбумина.

Метод оценки связывающих свойств альбумина в сыворотке с помощью конго красного был предложен Чегером [12]. Однако метод требует много сыворотки, трудоемок и продолжителен. Предпринимались попытки использования других красителей, в особенности флуоресцирующих (обзор данных см. в книге [1]). Недавно предложен новый флуоресцентный экспресс-метод для быстрой оценки связывающих свойств альбумина в микроколичествах сыворотки [10,11] и выпущены наборы реактивов для этого анализа [3]. С их помощью были обнаружены весьма значительные изменения связывающих свойств альбумина в динамике после острого инфаркта миокарда [6].

В связи с этим с помощью нового флуоресцентного метода мы провели исследование динамики изменений свойств связывающих центров альбумина после острого инфаркта.

Обследуемая группа пациентов представляла собой 13 человек (11 мужчин и 2 женщины в возрасте от 27 до 68 лет, средний возраст 50 лет) с диагнозом острого инфаркта миокарда, находящихся в блоке интенсивного наблюдения городского инфарктного центра г.Екатеринбурга. Кровь забирали через катетер из подключичной вены в 8, 14 и 20 часов первых, вторых и третьих суток пребывания пациента в блоке.

Сыворотку использовали для анализа в течение суток после взятия крови. От момента получения до анализа сыворотку хранили в замороженном виде при $-18-20^{\circ}\text{C}$.

Параллельно анализировали образцы сыворотки крови в группе из 15 доноров (мужчины и женщины, средний возраст 46 лет), у которых брали кровь из локтевой вены.

Свойства связывающих центров альбумина в образцах сыворотки крови оценивали методом флуоресцентных зондов [1,10] с помощью набора реактивов "Зонд-Альбумин" (НИМВЦ "ЗОНД", Москва) на анализаторе концентрации липидов АКЛ-01 (завод им.В.А.Дегтярева, г. Ковров) [3]. Первый измеряемый параметр отражает общую концентрацию связывающих центров альбумина (ОКА) в сыворотке. Вторым измеряемым параметром является концентрация, так и от структуры связывающих центров альбумина; ниже он сокращенно обозначен "ССА" (в предыдущих публикациях он также обозначался "ЭКА"). Для того чтобы выразить ССА и ОКА в единицах г/л, анализатор калибровали с помощью флуоресцентных калибраторов НИМВЦ "ЗОНД", которые весьма стабильны во времени [4,5]. Для анализа брали 0,025 мл сыворотки крови. Образцы сыворотки доноров и больных поступали в одни и те же дни и анализировались в одинаковых условиях, поэтому систематических расхождений между результатами в этих группах не было.

На основе этих параметров был рассчитан третий - относительный - параметр. Он отражает среднюю модификацию связывающего центра в молекуле альбумина и обозначен МСА (ранее его обозначали как РСА); он выражен в процентах: $\text{МСА} = 100 * (\text{ССА}/\text{ОКА})$.

Суммарное содержание атерогенных липидов - холестерина и триглицеридов - было измерено флуоресцентным методом [7] с помощью наборов реактивов и калибраторов НИМВЦ "ЗОНД" на том же анализаторе концентрации липидов АКЛ-01.

Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) была измерена унифицированным методом [9] с помощью наборов реактивов фирмы Lachema, результаты выражали в мкмоль/(ч*мл).

Общий билирубин измеряли с помощью наборов реактивов фирмы OLVEX DIAGNOSTICUM (Санкт-Петербург).

Параметры ОКА и ССА

Средние данные о параметрах ОКА и ССА в группе больных острым инфарктом в течение первых трех суток госпитализации приведены в табл.1. Как видно, снижены и общая, и эффективная концентрация альбумина в сыворотке: ОКА - на 10% и ССА - на 30 % по сравнению с группой доноров. Одновременно параметры становятся переменными. Эти вариации представляют большой интерес: если у доноров диапазон значений ОКА весьма узок (от 32 до 45 г/л), то у больных он становится в 3,6 раза шире (от 15 до 62 г/л). В результате в 61 % образцов сыворотки больных инфарктом величина ОКА выходит за пределы диапазона величин ОКА в группе здоровых доноров: в 42% случаев ОКА у больных ниже 32 г/л и в 19 % случаев она выше 45 г/л.

Диапазон значений ССА в группе доноров составлял 27-44 г/л. В группе больных инфарктом он расширяется в 2,5 раза. В результате в 68% случаев величина ССА у больных выходит за пределы диапазона, характерного для доноров: в 64% образцов величина ССА оказывается ниже 27 г/л и в 4 % образцов - выше 44 г/л.

Таблица 1

Параметры, характеризующие связывающую способность альбумина, в группе больных с острым инфарктом миокарда и в группе доноров

Группы	Доноры	Инфаркт	Достоверность различий
Число образцов	15	107	
ОКА, г/л диапазон	40±1,0 (40)* 32-45	36±1,0 (37)* 15-62	p < 0,001
ССА, г/л диапазон	37±1,0 (37)* 27-44	26±1,0 (19)* 10-52	p < 0,001
МСА, % диапазон	91±1,0 81-98	72±1,0 46-89	p < 0,001
Доля сывороток (%)*** с МСА < 81 %	0	87±1,0	
ХС+ТГ, мг/дл диапазон	29С±5,0 243-341	226±3,0 131-303	p < 0,001
Доля сывороток (%)*** с ХС+ТГ < 243 мг/дл	0	67±1,0	
Доля сывороток (%)*** с МСА < 81 % и/или с ХС+ТГ < 243 мг/дл	0	90±1,0	

* В скобках приведены данные из работы [8], полученные методом [12] с красителем конго красным

** В группу инфаркта не включен пациент N 5 с циррозом печени

*** В качестве ошибки средней величины считали корень квадратный числа случаев, деленный на число случаев; эту величину выражали в процентах от полного числа случаев.

Как видно из рис.1, между величинами ОКА и ССА, измеренными стандартным способом, имеется линейная связь, которая описывается линейной функцией вида:

$$L = \text{ОКА} + a \cdot \text{ССА} + b = 0 \text{ при } a = -0,81 \text{ и } b = -10,6$$

Коэффициент линейной корреляции в группе доноров близок к единице: $r = 0,88$ ($p < 0,01$). В группе больных (третьи сутки) линейная связь менее жесткая, однако коэффициент корреляции остается высоким ($r = 0,34$, $p < 0,01$). Интересно, что поле точек, соответствующих донорам, отделено от поля точек больных людей (третий день наблюдения). В результате все данные по донорам удовлетворяют двум условиям:

- ОКА выше 30 г/л,
- L укладывается в диапазон значений около нуля (от -3 до +3).

У больных же часто либо ОКА ниже 30, либо L не попадает в указанный диапазон около 0: в первый день такая ситуация наблюдается уже в 66 % сывороток больных, а во второй и третий дни - практически в 100 % случаев (табл.2).

Параметр МСА

Причинами изменения ССА могут быть как изменение общей концентрации альбумина (ОКА), так и изменение свойств связывающих центров в каждой из молекул альбумина. Поэтому отношение ССА/ОКА должно зависеть только от свойств связывающих центров. Это отношение обозначено "МСА" и выражено в процентах.

У всех доноров МСА укладывается в диапазон 81-98 %. Ранее в исследованиях, проведенных различными клиниками, также отмечалось, что в группах контроля (условно здоровые люди) величины МСА ниже 81 % почти не встречаются [1,10,6]. Напротив, при инфаркте в

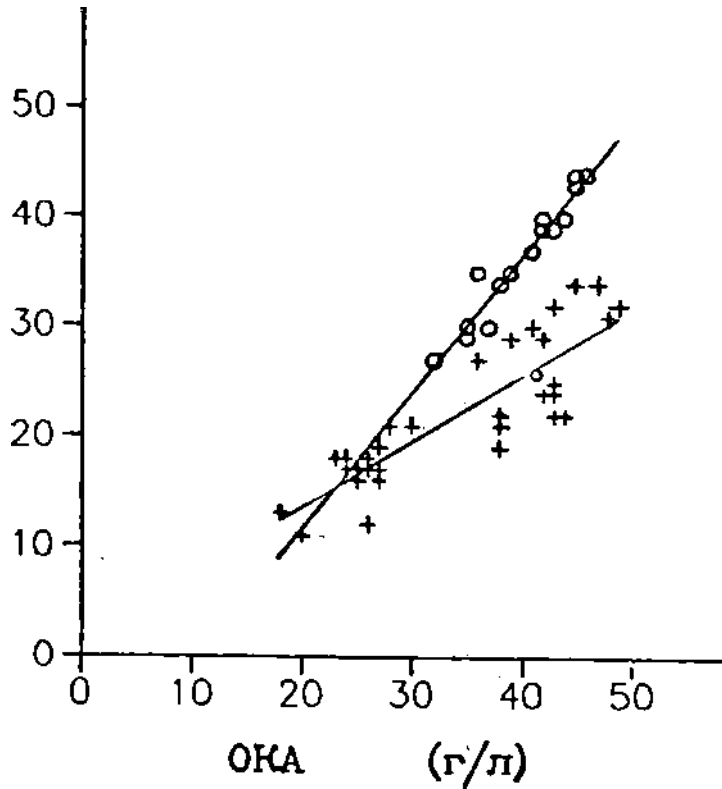


Рис.1 Сочетание величины ОКА и ССА у доноров (полые точки) и у больных инфарктом на третьи сутки наблюдения (крестики). Для каждого больного приведены величины всех трех измерений, проведенных в разное время третьих суток у каждого больного. (Через точки доноров и больных проведены линии наилучшей регрессии)

87 % образцов сыворотки МСА выходит за пределы этого диапазона и значения этого параметра находятся ниже 81%. В результате только 13 % случаев попадает в диапазон нормальных значений. При этом в первый день госпитализации за пределы нормального диапазона выходит 60 % сывороток, во второй день – 85 % и в третий день – 100 %. Таким образом, параметр МСА не только достоверно изменяется в динамике при ОИМ, но и прогрессирует в одном направлении в течение трех дней после инфаркта.

Динамика изменений ОКА, ССА и МСА

Ранее отмечалось, что у здоровых людей параметры ОКА, ССА и МСА мало варьируют во времени [6]: вариации находятся в области 3-4 %. У больных инфарктом, напротив, появляются значительные вариации при взятии крови в разное время суток, а также динамика изменения этих показателей на протяжении трех суток наблюдения (рис.2). Средние по группе значения ОКА как будто не изменяются во времени. Однако в действительности это является следствием трех типов динамики, наблюдаемых у разных пациентов: (а) ОКА остается нормальной все трое суток (пример приведен на рис.2а, кривая 2), (б) ОКА постепенно снижается (кривая 3) и (в) ОКА снижена уже в первый момент и в дальнейшем постепенно нормализуется [4].

В отличие от ОКА, параметр ССА у всех пациентов был снижен с самого начала заболевания и в дальнейшем продолжал снижаться на протяжении трех суток наблюдения (рис.2б).

Параметр МСА более консервативен: он несколько снижен уже при первом наблюдении и продолжает постепенно снижаться в течение нескольких дней (рис.2в). У всех 13 пациентов наблюдалось снижение МСА через трое суток по сравнению с первыми сутками (табл. 3). Это происходило даже у пациента N 5 с циррозом печени, хотя при циррозе уже исходно уровень МСА обычно снижен. По-видимому, динамика МСА отражает общую тенденцию процесса, свойственную всем или большинству случаев острого инфаркта, а динамика ОКА отражает индивидуальную реакцию пациента на инфаркт, и, возможно, характеризует индивидуальную стресс-реакцию.

Таблица 3

Динамика изменений МСА у 13 больных острым инфарктом миокарда. В таблице приведено отношение средней величины МСА за третьи сутки (МСА₃) к средней величине за первые сутки (МСА₁) у каждого из пациентов

Пациент	1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13
МСА ₃ / МСА ₁	0,94	0,82	0,83	0,75	0,86	0,81	0,90	0,90	0,8	0,81	0,8	0,9

Липиды крови

У доноров значения параметра ХС+ТГ находились в диапазоне от 243 до 341 мг/дл. При остром инфаркте этот параметр был снижен в среднем на 27%. Характерно, что при инфаркте появляются случаи таких низких значений ХС+ТГ, которые почти не встречаются у доноров. В первый день доля образцов сыворотки с уровнем ХС+ТГ ниже 243 мг/дл составляла 40%, во второй – уже 71%, а в третий – 85%. То есть постепенное снижение уровня атерогенных липидов после инфаркта приводит к появлению "аномально низких" значений ХС+ТГ.

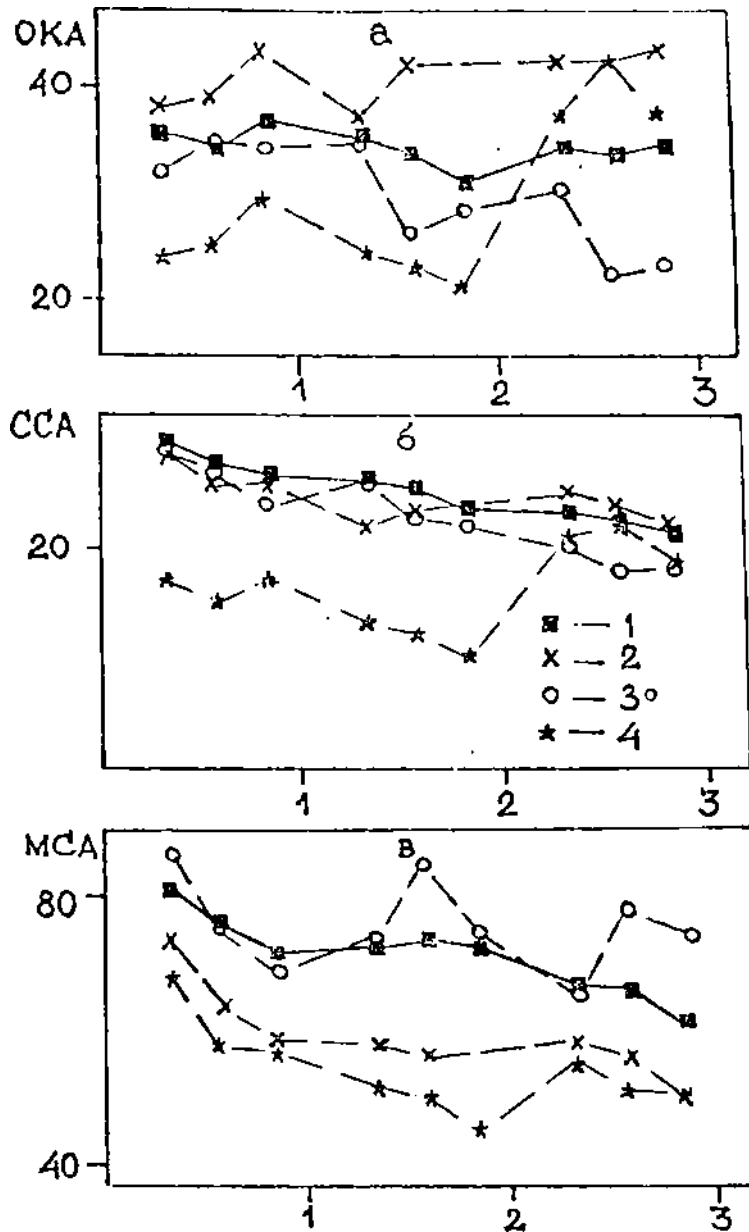


Рис.2 Динамика изменений а) ОКА, б) ССА, в) МСА на протяжении первых трёх дней после госпитализации больных ОИМ. 1-средние данные по 13 пациентам; 2,3,4 - примеры индивидуальных изменений у больных Н.З.К. (по горизонтальной оси отложено время наблюдения, начиная с 0 часов следующих суток после госпитализации)

Сочетание низкого уровня МСА с низким уровнем липидов
 Как показывают данные, приведенные в табл.2, аномально низкий уровень МСА в первый день наблюдения отмечен в 60% образцов, аномально низкий уровень ХС+ТГ в 40% образцов. В то же время доля образцов, где аномально снижен либо тот, либо другой, либо оба параметра вместе, составила уже 77%. На второй и третий день такие ситуации наблюдались уже в 100% случаев.

Таблица 2

Число случаев снижения параметра МСА ниже 81% и параметра ХС+ТГ ниже 243 мг/дл, а также функции L в первый, второй и третий день наблюдения больных с острым инфарктом миокарда

Аномально измененный параметр или сочетание	ОКА<30	ОКА<30 или L>3	МСА<81	ХС+ТГ<243	МСА<81 ХС+ТГ<243
1-й день	21	66	60	40	77
2-й день	50	100	85	71	100
3-й день	39	97	100	85	100

Приведена доля случаев в первый, второй и третий день наблюдения больных с острым инфарктом миокарда. Величины 30 г/л, 81% и 243 мг/дл представляют собой нижние границы в группе доноров. Число случаев выражено в процентах к числу измерений в каждый из дней. Данные по пациенту N 5 с сопутствующим циррозом печени исключены из подсчета.

Таким образом, при ОИМ обнаружено сочетанное снижение двух параметров - МСА и ХС+ТГ до аномально низких значений (не встречающихся в группе доноров) в 77-100% образцов сыворотки.

Аспартатаминотрансфераза и билирубин

Во всех образцах сыворотки пациентов производилось измерение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ). Этот параметр широко используется о качестве дополнительного критерия при диагностике и оценке тяжести течения острого инфаркта миокарда. Считается, что диапазон нормальных значений активности АСТ составляет 0,1-0,68 мкмоль/(ч*мл) [9].

В 69% образцов сыворотки были получены значения активности АСТ, выходящие за пределы нормы. Эта доля была примерно одинаковой в первые, вторые и третьи сутки наблюдений. В 31% случаев остро инфаркта заметных нарушений активности фермента не наблюдалось (Табл. 4)**

Таблица 4

Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) у больных ОИМ.

День наблюдения	1+2+3	1	2	3
Число образцов сыворотки	88	25	33	30
Средняя активность АСТ, мкмоль/ч.мл	1,33±0,1	1,40±0,1	1,36±0,1	1,24±0,1
Доля образцов с АСТ<0,68, %	31±2,0	28±2,0	33±3,0	30±3,0

Билирубин, занимая альбуминовые центры, способен снижать параметры ССА и МСА [3], что наблюдается, например, при желтухе различного генеза [10]. Однако после инфаркта уровень билирубина в 18 образцах сыворотки составил в среднем 9±0,9 мкМ и ни в одном образце не превышал границу нормы (20 мкМ). При 20 мкМ одна молекула билирубина приходится на 35 молекул альбумина и, очевидно,

не способна существенно конкурировать с К-35 за центры связывания. Следовательно, билирубин не является причиной наблюдавшихся изменений связывающих центров альбумина после инфаркта.

Использованный в данном исследовании флуоресцентный метод, характеризующий связывающие свойства альбумина в сыворотке крови, показал значительные изменения этих свойств в первые дни после инфаркта миокарда.

Результаты в целом согласуются с данными, полученными ранее тем же методом [6]. Они полностью согласуются также с данными, полученными 10 лет назад в работе [8] другими авторами иным, не флуоресцентным методом (эти данные приведены для сравнения в табл.1 в скобках, и совпадение величин просто удивительно).

Наиболее характерной особенностью этих изменений является снижение параметра МСА на протяжении первых трех суток, которое наблюдалось у всех обследованных пациентов. В большинстве случаев это снижение имеет монотонный характер. Уже на вторые сутки после ОИМ в 85% образцов сыворотки наблюдаются аномально низкие величины МСА - ниже нижней границы диапазона МСА у доноров.

Разница между больными и здоровыми становится еще более заметной, если оперировать сочетанием обоих измеряемых параметров (ОКА и ССА): это сочетание позволяет полностью отделить данные у больных (вторые и третьи сутки наблюдения) от данных по группе доноров.

Параллельно наблюдалось снижение концентрации атерогенных липидов (суммы холестерина и триглицеридов) в сыворотке. По данным популяционного обследования жителей Москвы и Ленинграда, величина ХС+ТГ ниже 243 мг/дл встречается менее чем у 5% мужчин [13]. В группе доноров мы не встретили ни одного такого значения. Между тем в первые сутки после инфаркта образцы сыворотки со столь низким значением ХС+ТГ составляли уже 40%, а на третий день - даже 85%. Это особенно контрастирует с уровнем липидов до инфаркта: у больных ишемической болезнью сердца он обычно повышен, и при наличии поражения коронарных артерий сумма ХС+ТГ в среднем составляет у мужчин 510 мг/дл [2].

Снижение альбуминовых и липидных показателей едва ли можно объяснить такой простой причиной как, например, разбавление крови в результате внутривенных инфузий растворов. Ведь МСА не зависит от концентрации альбумина (флуоресцентный сигнал из альбумина делится на общую концентрацию альбумина). Более того, в среднем общая концентрация альбумина снизилась лишь на 10%, тогда как МСА - на 20%. Введение гепарина, которое могло бы изменить концентрацию альбумина, также, по-видимому, не играет ведущей роли, так как в работе [6] получены сходные результаты в группе больных без гепариновой терапии.

Особенности диагностики и тактики лечения больных с острым инфарктом в московских и екатеринбургских клиниках в настоящее время и в Тирасполе 10 лет назад, по-видимому, не одинаковы, однако результаты измерения связывающих свойств альбумина, полученные к тому же разными методами, весьма сходны в трех клиниках ([6,8] и данная работа). Поэтому можно предполагать, что наблюдавшиеся нарушения связывающих свойств альбумина действительно являются следствием инфаркта миокарда.

Высокая частота встречаемости таких нарушений у больных позволяет думать, что регистрация связывающих свойств альбумина (в сочетании с измерением уровня липидов) может представлять интерес в процессе наблюдения за динамикой постинфарктных изменений в организме. Флуоресцентные методы измерения альбуминовых и липидных

показателей, которые использовались в данной работе, отличаются быстротой и простотой: анализ сыворотки может быть проведен быстро - за 1-2 минуты в микроколичествах сыворотки крови в условиях отделения интенсивной терапии, что для большинства больниц чрезвычайно важно.

Таким образом, была исследована способность альбумина связывать низкомолекулярные вещества в сыворотке крови в динамике на протяжении трех суток после ОИМ. Эту способность оценивали с помощью нового флуоресцентного экспресс-метода, который позволяет измерять параметры, характеризующие свойства связывающих центров. Показано, что концентрация альбумина после инфаркта становится нестабильной, претерпевая колебания, хотя среднее значение концентрации в группе больных изменялось мало. Напротив, свойства связывающих центров в молекуле альбумина значительно изменялись не только в среднем по группе больных, но и у каждого из пациентов. Эти изменения нарастали в течение трех суток наблюдения. Оказалось, что в обследованной группе больных снижение связывающих свойств альбумина не обусловлено связыванием центров альбумина билирубином и является правилом, которое выполнялось практически во всех случаях. Параллельно отмечены частые случаи падения уровня липидов крови до аномально низких значений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине/ Под ред. Ю.А.Грызунова и Г.Е.Добрецова. М: Ириус, 1994. 226 с.
2. Анисимова О.Ю., Преображенский С.Н., Лякишев А.А. и др. // Кардиология. 1987. N27, 10. С.39-43.
3. Грызунов Д.А. В кн.: Альбумин сыворотки крови в клинической медицине/ Под ред. Ю.А.Грызунова и Г.Е.Добрецова. М.: Ири- ус. 1994. С.71-77.
4. Грызунов Ю.А., Лукичева Т.И. // Клиническая лабораторная диагностика 1994. N 5. С.25-27.
5. Грызунов Д.А., Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е., Пестова А.Б. // Клиническая лабораторная диагностика 1994. N 5. С.27-31.
6. Грызунов Ю.А., Пестова А.Б., Коцайнани Е.Н. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 1994. N 5. С. 23-25.
7. Лапшин Е.Н., Добрецов Г.Е., Красовицкий Б.М. и др. // Клиническая лабораторная диагностика 1992. N 5-6. С. 40-43.
8. Мельник И.А., Барановский П.В., Нестеренко Л.И. // Лаб. дело. 1985. N 4. С.202-204.
9. Меньшиков В.В. (ред.) Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. М.: Медицина. 1987. С.186-190
10. Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е. // Клиническая лабораторная диагностика. 1994. N 5. С. 20-23.
11. Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е., Красовицкий Б.М., Корнилова Л.И., Ермоленко И.Г. Авт.свидетельство СССР, N 1681266 от 01.06.1991
12. Чегер С.И. Транспортная функция сывороточного альбумина. Бухарест: Изд-во Академии СРР, 1975. 183 с.
13. Lapshin E.N., Dobretsov G.E., Lopukhin Yu.M. et al. in Sov.Med.Rev.V.Physicochemical. Harwood. 1991. V.3. P.80.