

Современные технологии

Альбумин снимает маску

Группой белорусских ученых под руководством физика Владимира Муравского разработан принципиально новый метод диагностики септических осложнений и онкологических заболеваний

Это первый в международной лабораторной практике метод, который позволяет анализировать функциональное состояние белков плазмы крови. В разработке прибора нового поколения, работающего на уровне нанотехнологий, вместе с белорусскими учеными принимали участие специалисты из Университетского госпиталя Шарите в Берлине, Института трансфузиологии и Института медицинской физики и биофизики Лейпцигского университета, Орегонского университета здоровья и науки (Портленд, США).

Поиски после катастрофы

Толчок к началу новаторских разработок дала трагедия в Чернобыле. В связи с ростом числа раковых заболеваний после катастрофы в Белоруссии были организованы масштабные исследования с целью выявления различных маркеров для ранней диагностики раковых заболеваний. Штабом этих работ стал НИИ онкологии и медицинской радиологии Минздрава Белорусской ССР (ныне – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии).

Кроме сбора данных по всем доступным маркерам было решено составить комплекс биохимических тестов, которые позволили бы проводить раннюю диагностику онкозаболеваний. Все возможные научные инициативы (не только медицинские) включались в большие клинические исследования с целью оценки их потенциала. Ничего удивительного, что в круг разработок был включен метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Он активно применялся в молекулярной биологии в 70-е годы прошлого века с целью изучения взаимодействия различных видов белков, показал себя информативным и находился тогда на пике популярности. Правда, на момент масштабных исследований метод успел отойти в тень из-за трудности расшифровки получаемой информации. Тогда еще не было мощных компьютеров, и ЭПР временно уступил место флуоресцентным методам, которые позволяли получать ту же информацию «более грубо».

Когда были собраны обширные клинические данные (более 3 тыс. пациентов), оказалось, что метод ЭПР показал наибольшую информативность с точки зрения диагностики. Неожиданностью стало то, что эта информация была найдена на основном транспортном белке плазмы крови альбумине.

Немецкие исследования и белорусский прибор

Альбумин – и сейчас, и тогда – самый изученный белок в мире. Поэтому никто и не ожидал, что именно в нем обнаружится дополнительный «диагностический объем». В начале исследований было много скептицизма: не было достаточно стабильного инструментария, приемлемых клинических методов исследования, адекватного программного обеспечения.

– Мы брали молекулу жирной кислоты, к которой «пришивалась» спиновая метка, и получившийся зонд со свободным радикалом связывался с альбумином, – рассказал нам белорусский ученый Владимир Муравский. – Это соединение помещалось в электромагнитное поле, облучалось СВЧ (около 10 гигагерц), и прикрепленная к белку молекула начинала резонировать. Изменяемый сигнал по информативности для молекул альбумина подобен ультразвуковому для макрообъектов, он отражает конфигурацию, скорость движения, вращения самого белка, то есть позволяет изучить форму белка, его подвижность, особенности внутреннего устройства. Но эта чрезвычайная информативность делала сложной интерпретацию, не позволяла понять измеряемые



цию. А созданный в Минске прибор – ЭПР-анализатор показывает сейчас блестящие результаты в диагностике гнойно-септических осложнений и онкозаболеваний, мониторинга в процессе лечения.

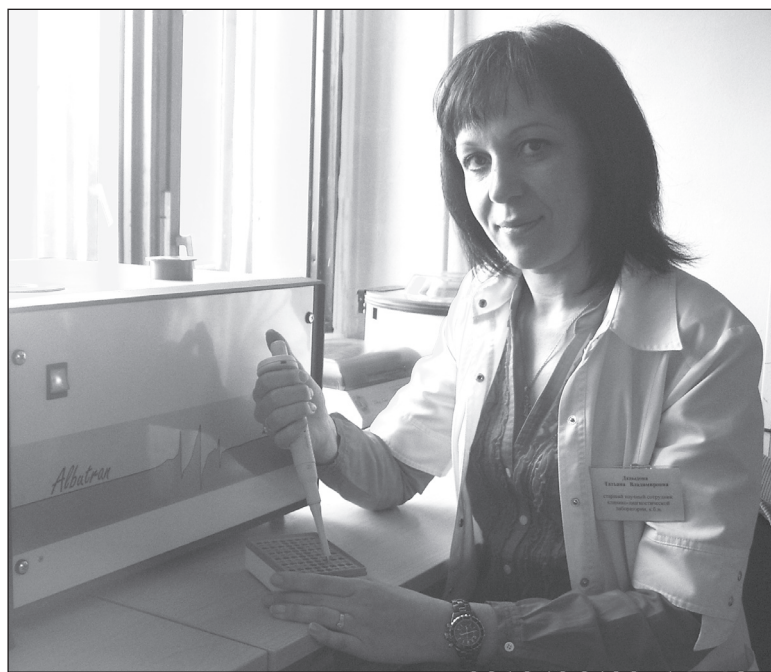
Результаты налицо

Итак, после 7 лет контрактных работ в Германии Владимир Муравский и его коллеги вернулись на родину и создали лабораторный анализатор «ЭПР АХМ-09», в котором сложнейшие физико-химические аналитические процессы были предельно просто адаптированы для работы в клинической лаборатории. Лишь несколько месяцев назад зарегистрированный в Белоруссии и России прибор почти год проходил апробацию в Российском онкологическом научном

центре им. Н.Н.Блохина РАМН. Что уже показала работа с ЭПР-тестированием? После того, как в каждую из пробирок с сывороткой крови пациентов лаборант добавляет спинмеченную кислоту, имеющую свойство присоединяться к альбумину, планшет на 10 минут ставится в шейкер для инкубации. Подготовленная плазма из каждой пробирки забирается в капилляры, которые закладываются в ЭПР-анализатор. За 1-3 минуты прибор измеряет конформацию альбумина и выдает несколько показателей. Дискриминантный параметр показывает степень модификации конформации сывороточного альбумина. Выверенные эмпирическим путем цифры говорят о способности альбумина отдавать и накапливать низкомолекулярные метаболиты, которые он транспортирует.

Следующий показатель – транспортная функция альбумина – показывает как эффективно альбумин способен доставлять метаболиты к гепатоцитам. Иногда альбумин настолько перегружен, что не может полностью «разгрузиться». 60-100% выполнения этой функции считается нормой. Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

сигналы. До того момента в клинике контролировался только один параметр альбумина – концентрация, характеризующая онкотическое давление плазмы крови. Как транспортный белок альбумин – основной переносчик гидрофобных соединений в циркуляторной системе организма. В этой среде гидрофобные соединения самостоятельно транспортироваться не могут, они не растворимы и токсичны, если не связаны белком. Белок же функционирует как микрогрузовик, который в одном месте связывает метаболиты, перевозит их, и в другом месте отдает, притом огромное количество метаболитов! Мы долго разбирались с этим механизмом, работали в немецких лабораториях под эгидой Института Пауля Эрлиха, опубликовали десятки статей, признанных научным сообществом. И добились своего. Проводя функциональные исследования альбумина у пациентов с нормой и различной патологией, мы также изучали фармацевтические препараты альбумина, продукты плазмы крови и растворы для инфузий. Например, были препараты, содержащие модифицированный альбумин, не способный выполнять транспортные функции. У пациентов (как правило, в послеоперационном периоде) именно после инфузий такого альбумина возникают осложнения. Мы работали с фармацевтическими компаниями, совершенствуя технологический процесс и создавая альбумин с повышенными детоксикационными свойствами. На Центральной станции переливания крови в Берлине, например, наши исследования показали, что фильтры крови, которые применяли немецкие трансфузиологи, повреждали альбумин. В результате они отказались от этих фильтров. Нами был применен новый научный подход – рассматривать молекулярные объекты как работающие агрегаты.



Дискриминантный параметр показывает степень модификации конформации сывороточного альбумина. Выверенные эмпирическим путем цифры говорят о способности альбумина отдавать и накапливать низкомолекулярные метаболиты, которые он транспортирует.

Следующий показатель – транспортная функция альбумина – показывает как эффективно альбумин способен доставлять метаболиты к гепатоцитам. Иногда альбумин настолько перегружен, что не может полностью «разгрузиться». 60-100% выполнения этой функции считается нормой. Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

Следующий показатель – транспортная функция альбумина – показывает как эффективно альбумин способен доставлять метаболиты к гепатоцитам. Иногда альбумин настолько перегружен, что не может полностью «разгрузиться». 60-100% выполнения этой функции считается нормой. Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

Следующий показатель определяет детоксикационную эффективность альбумина (он же говорит и о детоксикационной функции печени). Например, у всех послеоперационных больных и больных с сепсисом он значительно снижен. Если 100%-ный показатель – это норма для здорового человека, то значения от 10 до 40% свидетельствуют о нарушении детоксикационной функции, менее 10% – о высокой вероятности развития септического осложнения. Например, при гестозах беременных показатель находится в диапазоне 20-25%, что показали предварительные исследования, проведенные в родильном доме клинической больницы № 5 и Республиканском научно-практическом центре «Мать и дитя» в Минске (там же проводили измерения интоксикации у новорожденных).

Двое суток в запасе

– Исследования с помощью метода электронного парамагнитного резонанса проводились в отделении реанимации и интенсивной терапии, – рассказывает старший научный сотрудник Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН Татьяна Давыдова. – Они показали, что у пациентов с развивающейся интоксикацией, и особенно с начинающимся сепсисом, способность альбумина связывать токсины снижается значительно раньше, чем появляются первые клинические признаки интоксикации. Рассматривая эту картину с точки зрения патогенеза, можно предположить, что при увеличении концентрации токсинов они либо повреждают белок, либо токсинов становится так много, что альбумин «перегружается» и становится не способным их

переносить. Причем нарушения в системе транспортировки токсинов отмечаются ранее, чем диагностируемое действие токсинов на клетки и органы. ЭПР-анализатор показывает повреждение, «перегрузку» альбумина, предшествующую клиническим симптомам. Таким образом, мы можем прогнозировать развитие септических состояний больного заранее и с очень высокой степенью надежности. На группе из 45 пациентов нами показано, что чувствительность метода ЭПР – 89%, специфичность – 86%, точность – 87%.

Получается, что врач примерно за 2 суток до появления симптомов сепсиса может применить комплекс мер для предупреждения развития септических осложнений.

– Сейчас мы проводим исследования у онкологических больных в раннем послеоперационном периоде, – продолжает Татьяна Давыдова. – У пациентов, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии ежедневно в течение нескольких дней брали пробы сыворотки крови и исследовали на ЭПР-анализаторе. Предварительные результаты показали, что у пациентов с гнойно-септическими осложнениями детоксикационный параметр из проб, взятых в первый и второй день после операции, показал 100%-ную диагностику последующих осложнений! Метод, используемый с наибольшей диагностической эффективностью в стадии воспаления, по сути, является ранним маркером нарушения послеоперационных осложнений. Он показал себя предпочтительнее в сравнении с лучшими маркерами на сепсис, используемыми сейчас в клиниках.

Сферы применения: вопрос открыт

Практическое применение метода ЭПР-спектроскопии далеко не ограничивается диагностикой септических состояний. Выявлено, что конформация альбумина изменяется, когда еще не обнаружено новообразование уже начинает продуцировать опухолевые метаболиты. Это же относится к опухолям, которые после проведения химио- и лучевой терапии снова начинают активизироваться. Метод ЭПР-спектроскопии не противопоставляется эффективно применяемым в клинической практике онкомаркерам, но может существенно дополнить диагностические усилия на доклинической и ранней стадии заболевания.

Об этом говорят уже завершённые или продолжающиеся исследования белорусских ученых и клиницистов. Например, по лабораторному способу оценки эффективности лечения больных раком молочной железы удалось не только определить эффективность проводимого лечения, но и выявить пациенток с повышенным риском прогрессирования заболевания и рассмотреть вопрос дальнейшей коррекции лечения для продления жизни больных.

Как было сказано выше, одна из возможных сфер применения ЭПР-тестирования – гестозы беременных, токсические состояния новорожденных. Уже через 30-45 минут – время от взятия пробы из пуповины и до получения результата – можно оценить состояние и новорожденного, и его мамы...

Учеными снята еще одна маска с не раскрытых до конца тайн альбумина. Вполне возможно, что новый диагностический метод – с большими прогностическими возможностями и достоверностью – уже в скором времени поможет нашим врачам в раннем выявлении многих заболеваний.

Альберт ХИСАМОВ, обозреватель «МГ».

НА СНИМКАХ: физик Владимир Муравский; Татьяна Давыдова работает с ЭПР-анализатором.