

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И. М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Туркина Анастасия Андреевна

**Влияние альбумина на долгосрочный жизненный прогноз
у пациентов с циррозом печени**

3.1.30. Гастроэнтерология и диетология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Ивашкин Владимир Трофимович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1 Дизайн исследования	31
2.2 Методы исследования.....	33
2.2.1 Клиническое обследование пациентов	33
2.2.2 Спектроскопия спинового зонда с применением электронного парамагнитного резонанса (ЭПР-спектроскопия)	35
2.2.3 Статистическая обработка данных.....	38
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
3.1 Характеристика объектов исследования, их исходные лабораторно-инструментальные и клинические данные	41
3.1.1 Характеристика включенных в исследование пациентов с циррозом печени (ЦП) и здоровых добровольцев	41
3.1.2 Сравнительная характеристика структурно-функциональных свойств сывороточного альбумина, полученных методом ЭПР-спектроскопии, у пациентов с ЦП и у здоровых лиц.....	44
3.1.3 Изменения структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина, полученных методом ЭПР-спектроскопии в зависимости от тяжести ЦП	46
3.1.4 Характеристики показателя нативной конформации и функциональных свойств альбумина в группах СМТ и СМТ + Альбумин	50
3.2. Зависимость тяжести нарушений структуры и функций альбумина от тяжести ЦП	51
3.2.1 Связь изменений нативного альбумина, его транспортной, связывающей, детоксикационной активности с тяжестью ЦП по шкале Чайлд – Пью.....	51

3.2.2 Связь изменений уровня сывороточного альбумина, его нативной конформации, транспортной, связывающей, детоксикационной активности с тяжестью асцита, наличием печеночной энцефалопатии, желтухи и варикозного расширения вен пищевода	56
3.2.3 Анализ распространенности нарушения нативной конформации, снижения связывающей, транспортной и детоксикационной функций при нормальном уровне сывороточного альбумина и гипоальбуминемии.....	61
3.3 Динамика показателей за период 3-месячного наблюдения на фоне лечения..	64
3.3.1 Оценка клинических и лабораторно-инструментальных показателей пациентов с декомпенсированным ЦП в динамике.....	64
3.3.2 Оценка структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина методом ЭПР-спектроскопии у пациентов с декомпенсированным ЦП в динамике.....	76
3.4 Влияние уровня альбумина, его структурных и функциональных свойств на показатели выживаемости пациентов за 24 месяца.....	87
3.5 Клинические наблюдения	95
3.5.1 Клиническое наблюдение 1.....	95
3.5.2 Клиническое наблюдение 2.....	100
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	107
ВЫВОДЫ.....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	118

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Цирроз печени (ЦП) – терминальная стадия широкого круга хронических заболеваний печени, приводящая с высокой частотой к инвалидизации и смертности [11, 12, 24]. Так, ЦП занимает 11-е место в структуре летальности по всему миру, 4-е место – в странах восточной и центральной Европы [131].

Прогноз выживаемости пациентов с ЦП зависит от следующих осложнений: асцит, в том числе рефрактерный, желудочно-кишечные кровотечения, бактериальные инфекции, усугубление печеночно-почечной и сердечно-сосудистой недостаточности [14, 22, 26, 64].

При этом терапевтических методов, позволяющих достоверно и существенно улучшить данную тревожную статистику, на сегодняшний день не предложено. В качестве одного из направлений поиска рассматривается изучение онкотических и неонкотических свойств альбумина [61, 66]. В литературе описано, что сывороточный альбумин у пациентов с ЦП претерпевает ряд структурных и функциональных изменений, приводящих к нарушению его физиологических функций [110].

Одним из перспективных направлений, исследуемых в последние годы, является **длительное** применение человеческого альбумина, обладающего, наряду с онкотическими и плейотропными, также неонкотическими свойствами – антиоксидантными, дезинтоксикационными, иммуномоделирующими, эндотелиопротективными, связывающими и транспортными. В работах ряда авторов показана существенная значимость и эффективность терапии высококонцентрированным человеческим альбумином, оказывающим влияние на выживаемость и развитие осложнений у данной категории пациентов [44, 93]. Вместе с тем остается нерешенным ряд вопросов: показания для начала заместительной терапии альбумином, качественные и количественные показатели

собственного альбумина; целевые значения в сыворотке крови, при которых трансфузии альбумина можно закончить без потери эффективности терапии.

В связи с вышесказанным представляется актуальным изучение качественных характеристик сывороточного альбумина у пациентов с ЦП, их связь с клинико-лабораторными изменениями, клиническими проявлениями, возможности коррекции данных изменений с помощью заместительной терапии и оценка отдаленных результатов лечения.

Цель исследования

Определить клиническое значение концентрации альбумина, его структурных и функциональных свойств в диагностике, лечении с использованием высококонцентрированного раствора альбумина человека и прогнозе выживаемости пациентов с декомпенсированным циррозом.

Задачи исследования

1. Изучить качественные характеристики альбумина (нативность конформации альбумина [DR], способность к связыванию [BE], транспортные [RTQ] и детоксикационные [DTE] свойства) у пациентов с декомпенсированным циррозом печени, осложненным асцитом.

2. Оценить связь между уровнем сывороточного альбумина, качественными характеристиками и клиническими проявлениями декомпенсированного цирроза печени.

3. Установить, служит ли структурная и функциональная неполноценность альбумина показанием для начала заместительной терапии раствором альбумина человека.

4. Оценить влияние трехмесячного курса заместительной терапии альбумином на клинические и лабораторные проявления декомпенсированного цирроза печени.

5. Определить целевые значения собственного сывороточного альбумина и его структурно-функциональной полноценности, при которых прекращение заместительной терапии сопровождалось бы отсутствием асцита в течение трех последующих месяцев.

6. Оценить долгосрочный прогноз влияния заместительной терапии на выживаемость в течении 24 месяцев наблюдения.

Научная новизна

В настоящей работе изучены неонкотические свойства сывороточного альбумина у больных декомпенсированным ЦП и асцитом, показана их связь с особенностями течения заболевания, а также 24-месячной выживаемостью.

Установлена связь нарушений структурно-функциональных свойств альбумина с тяжестью цирроза печени по шкале Чайлд – Пью.

Доказано, что исходно нарушенные структурно-функциональные характеристики альбумина способны восстанавливаться на фоне заместительной терапии альбумином.

Определены новые показания для заместительной терапии альбумином и критерии ее окончания.

Показана значимость структурно-функциональных характеристик альбумина в оценке жизненного прогноза пациентов с декомпенсированным циррозом печени.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Данное исследование доказывает важность замещения собственного альбумина с нарушенными структурными и функциональными характеристиками препаратами высококонцентрированного альбумина человека у пациентов с декомпенсированным ЦП и асцитом. Показано, что 3-месячный курс трансфузионной терапий альбумином способствует компенсации заболевания,

регрессии асцита, снижению выраженности ПЭ. Особую значимость представляют выработанные критерии для начала трансфузии альбумина, которых до настоящего момента не существовало. Также, выявлены целевые показатели альбумина, при которых достигается регрессия асцита и представляется возможным завершить курс заместительной терапии. Результаты исследования демонстрируют, что непродолжительный курс заместительной терапии альбумином в долгосрочной перспективе позволяет добиться регрессии асцита и улучшить показатели выживаемости.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования послужила совокупность клинических, лабораторно-инструментальных и статистических методов [11].

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с декомпенсированным циррозом печени и асцитом нарушаются структура и функции сывороточного альбумина.
2. Данные изменения усиливаются по мере прогрессирования заболевания, но способны нормализоваться на фоне заместительной терапии альбумином.
3. Включение в схему обследования пациентов с декомпенсированным циррозом печени и асцитом спектроскопии электронного парамагнитного резонанса для определения структурно-функциональных характеристик альбумина позволяет более точно определить показания для начала и окончания заместительной терапии.
4. Структурно-функциональная неполноценность сывороточного альбумина у пациентов с декомпенсированным циррозом печени и асцитом служит дополнительным критерием для инициации заместительной терапии альбумином, даже при его нормальном содержании в крови.

5. Заместительная терапия альбумином может быть прервана без риска рецидива асцита при достижении целевого уровня собственного альбумина – 42 г/л, показателе нативной конформации выше 1,05, связывающей способности – не менее 73,51%, транспортной активности – выше 75,10%, детоксикационной – более 72,71%, регрессии асцита.

6. Заместительная терапия альбумином значительно снижает риск рецидива асцита и повышает выживаемость пациентов с декомпенсированным циррозом печени в течение 24-месячного периода наблюдения.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.30. Гастроэнтерология и диетология; область науки – медицинские науки; группе научных специальностей – клиническая медицина; области исследований согласно пунктам 6, 7, 11.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных в исследовании данных определяется достаточным числом включенных в исследование пациентов, длительным сроком наблюдения, проведением современных методов диагностики квалифицированными специалистами. Оценка достоверности результатов научной работы осуществлялась с помощью современных методов статистического анализа данных. Полученные выводы соответствуют поставленным целям и задачам исследования. Все выводы и практические рекомендации логично следуют из полученных результатов.

Основные результаты работы отражены в печати. Материалы диссертации были доложены на следующих конференциях: UEG Week Virtual 2021 (4 октября 2021 г.); UEG Week 2022 (Вена, Австрия, 9 октября 2022 г.); UEG Week 2022 (Вена, Австрия, 11 октября, 2022 г.); XIV научно-практическая конференция

Московского городского научного общества терапевтов «Актуальные вопросы терапии внутренних болезней» (12 декабря 2022 г).

Награды. Работа автора «Electron paramagnetic resonance albumin function test as a marker of the severity of the liver cirrhosis» была отмечена 10 октября 2022 г. наградой «National Scholar Award» на 30-й объединенной гастроэнтерологической неделе UEG Week (Вена Австрия, 8–11 октября 2022 г.).

Основные положения диссертационной работы нашли практическое применение в лечении пациентов отделения гепатологии Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В. Х. Василенко Сеченовского университета (директор клиники – академик РАН, профессор, д. м. н. В. Т. Ивашкин, заведующая отделением – к. м. н. М. С. Жаркова) [12].

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 17 апреля 2023 года.

Личный вклад автора

Автором лично выполнен обзор зарубежной и отечественной литературы по изучаемой проблеме, подготовлены публикации по теме исследования. Автору принадлежит ведущая роль в разработке дизайна исследования, подготовка методологии исследования. Автором самостоятельно осуществлялся набор пациентов, динамическое наблюдение за ними. Была самостоятельно проведена подготовка биологического материала пациентов для дальнейшего исследования (центрифугирование образцов крови, заморозка, транспортировка в лабораторию). Автором самостоятельно проводилось ведение электронной базы в Excel и статистическая обработка данных и полученных результатов. Автор представил результаты проведенного исследования медицинскому сообществу путем выступления на конференциях и публикаций в научных изданиях.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 8 работ, в том числе 2 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer); 1 статья – иная публикация по результатам исследования (обзорная статья), опубликованная в индексируемой международной базе Scopus, 5 публикаций – в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них – 2 в сборниках зарубежных конференций).

Объем и структура диссертации

Материалы диссертации изложены на 134 страницах печатного текста. Работа включает: введение, 4 главы, выводы, практические рекомендации и список сокращений и условных обозначений. Список литературы содержит 137 источников литературы, из которых 39 являются отечественными источниками, 98 – зарубежными источниками. Диссертация иллюстрирована 38 таблицами и 40 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Альбумины относятся к группе шаровидных водорастворимых белков, которые синтезируются в печени [30, 45]. К группе альбуминов также относятся витамин-D-связывающий протеин, α -фетопропротеин, α -альбумин (афамин) [16, 76]. Альбумин – это молекула в форме сердца с молекулярной массой 66 438 кДа [80] и периодом полураспада в организме около 19 дней. Он стабилен в диапазоне pH 4 – 9 и выдерживает нагревание до 60 °С в течение 10 часов [45]. Сывороточный альбумин присутствует в плазме крови в наиболее высокой концентрации (35–50 г/л) и составляет по разным данным 50–60% всех белков [8, 23].

В других компартментах содержание альбумина не столь высоко: в лимфатической системе – 15–36 г/л, в межклеточной жидкости – 3–10 г/л, в ликворе – 0,3 г/л, в слюне – менее 0,5 мг/мл [8, 115]. В сосудистом русле присутствует 120–140 г альбумина (30%), в интерстиции – около 300 г (70%). Таким образом, в организме взрослого человека в норме содержится 400–450 г альбумина [8].

Одно из первых упоминаний об альбумине, выпавшем в осадок в моче, относится к 1500 году нашей эры [106]. Первое клиническое использование очищенного человеческого альбумина (ЧА) имело место во времена Второй мировой войны. Семи пациентам с ожогами тяжелой степени, полученными в ходе сражения в Перл-Харборе [48], вводили ЧА на протяжении 10 дней. У пациентов активизировались репаративные процессы и все семь человек, несмотря на обширные ожоги, выжили [108].

Структура

В 1959 г. было установлено, что молекула альбумина состоит из аминокислотной последовательности, соединенной дисульфидными мостиками, и не содержит углеводных остатков [109]. В 1975 году J. R. Brown и V. Meloun, независимо друг от друга, идентифицировали первичную последовательность ЧА [8, 97]. Первичная последовательность белка содержит один остаток триптофана

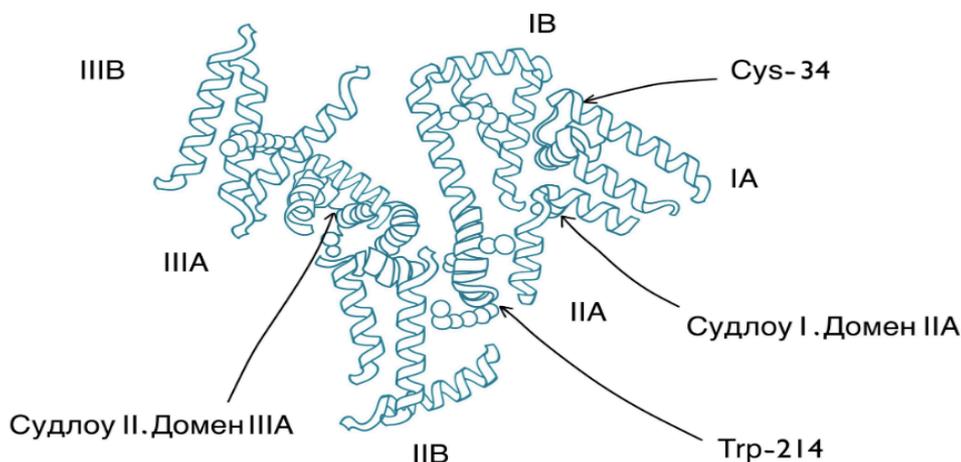
(Trp214) и несколько заряженных аминокислотных остатков (лизин, аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты), которые придают [77] суммарный отрицательный заряд белку при физиологическом рН, что обеспечивает альбумину гидрофильные свойства [91, 114].

В 1989 г. D. C. Carter и соавторы впервые визуализировали трехмерную структуру молекулы альбумина методом многократного изоморфного замещения с разрешением 6,0 ангстрем (Å) [132]. В 1999 году группе японских ученых во главе с S. Sugio удалось определить трехмерную структуру альбумина с более высоким разрешением (2,5 Å). На основании представленных данных установлено, что ЧА – спиральный белок в форме ассиметричного сердца [58].

В структуре альбумина выделяются три гомологичных α -спиральных домена, I (остатки 1–195), II (196–383) и III (384–585), которые имеют схожую структуру. Эти три домена состоят из десяти антипараллельных спиралей и разделены на два поддомена: поддомен А с шестью спиральями (h1–h6) и поддомен В с четырьмя спиральями (h7–h10). Кроме того, молекула альбумина содержит 35 остатков цистеина (Cys), 34 из которых участвуют в образовании 17 дисульфидных связей, которые стабилизируют структуру этой шаровидной молекулы. Таким образом, шаровидная конфигурация придает аллостерические свойства мономерному ЧА, делая его способным связываться с множеством лигандов [59]. ЧА содержит только один остаток триптофана Trp-214 (W214), который расположен в непосредственной близости от гидрофобной части поддомена IIА (Рисунок 1) [48, 55].

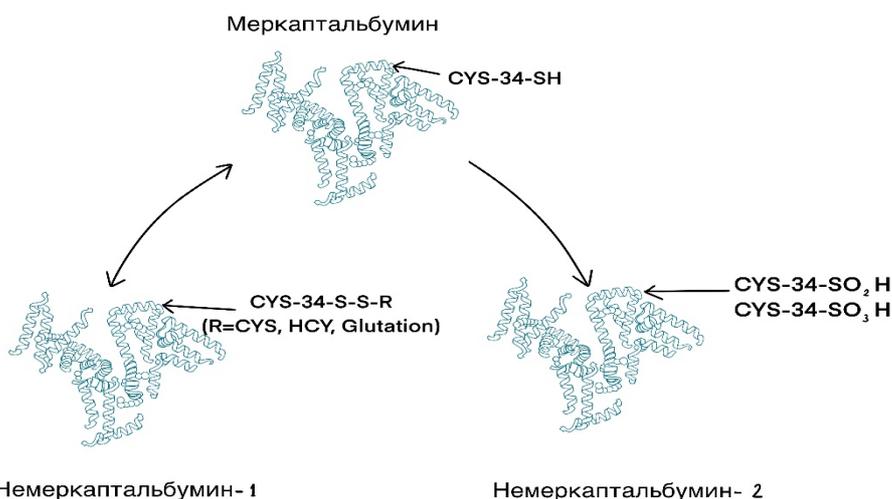
Окружающая область W214 (Trp-214) включает в себя два высокоаффинных сайта связывания лекарственных средств (Sudlow I и II). Сайт I находится в поддомене IIА, а сайт II – в IIIА [91]. Также W214 выступает в качестве зонда в спектроскопических исследованиях [127, 48]. Единственный из 35 остатков Cys не участвует в формировании дисульфидных связей и остается свободным в положении 34 (Cys34) [114]. Этот свободный Cys34 определяется у всех исследованных млекопитающих и характеризует гетерогенность изоформ альбумина. В зависимости от статуса Cys34, альбумин может быть разделен на три фракции [124]: **меркаптальбумин** с восстановленным Cys34 (содержит

свободную сульфгидрильную группу [21]); **немеркаптальбумин-1**, который формирует дисульфиды с низкомолекулярными тиолами, такими как цистеин, гомоцистеин, глутатион; **немеркаптальбумин-2** с тиолом Cys34, окисленным до сульфеновой или сульфокислоты (Рисунок 2) [30, 124].



Примечание – В молекуле альбумина выделяют три домена (I, II, III), которые подразделены на поддомены А и В. Свободный Cys-34 не участвует в формировании дисульфидных связей, определяет гетерогенность изоформ альбумина. Высокоаффинные сайты связывания лекарственных средств Sudlow I и II находятся в поддоменах IIA и IIIA, соответственно

Рисунок 1 – Строение молекулы альбумина



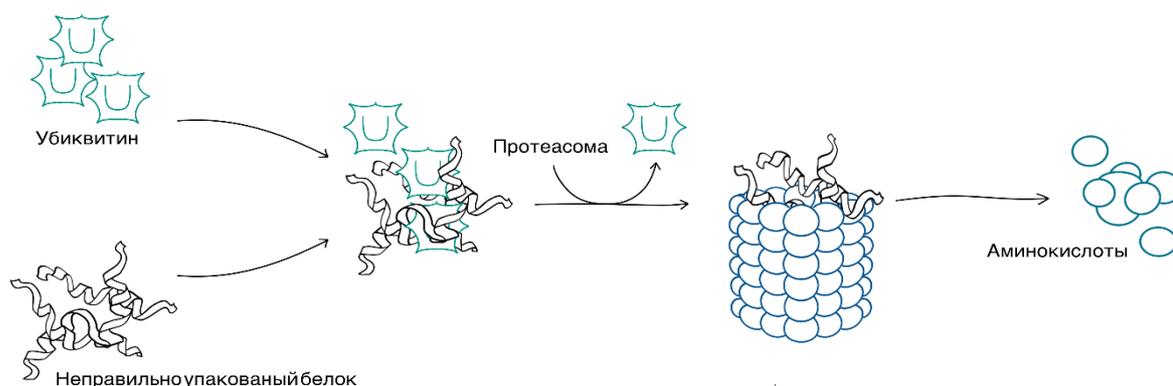
Примечание – В зависимости от статуса Cys-34, альбумин может находится в свободной, неокисленной форме – меркаптальбумин (на его долю приходится более 70%), обратимо окисленной форме – немеркаптальбумин 1 и необратимо окисленной – немеркаптальбумин-2; CYS – цистеин; HCY – гомоцистеин; SO₂H – сульфеновая кислота; SO₃H – сульфоновая кислота

Рисунок 2 – Фракции альбумина

В плазме здоровых взрослых содержание меркаптальбумина (свободная сульфгидрильная группа) составляет наибольшую часть из трех изоформ, более 70% [40]. Однако при развитии некоторых патологических процессов доля окисленных форм увеличивается [21, 134]. Окислительно-восстановительное состояние сывороточного альбумина было широко исследовано у пациентов с печеночной недостаточностью. О его переходе в окисленное состояние сообщалось у пациентов с хроническими заболеваниями печени [102]. Так, при прогрессировании заболеваний печени значительно повышается немеркаптальбумин-2 [78]. Данный сдвиг, по-видимому, связан с нарушением циркуляции альбумина и окислительным стрессом в результате нарушения работы печени [56, 123, 124].

Транскрипция и трансляция

Ген альбумина человека расположен на хромосоме 4 q (11–22), и мутации этого гена приводят к синтезу аномального белка. Ген альбумина имеет 1691 нуклеотид и содержит 14 интронов и 15 экзонов [103]. Всякий раз во время синтеза из-за неизбежных ошибок несколько копий могут сложиться неправильно. В таком случае эти дефектные копии ковалентно связываются с молекулами убиквитина для дальнейшей деструкции в протеасомах [90] (Рисунок 3).



Примечание – Неверно сложенный белок маркируется молекулой убиквитина для дальнейшего разрушения в протеасомах до аминокислотных остатков

Рисунок 3 – Деградация неправильно сложенного белка в протеасомах

В печени ежедневно синтезируется около 10–15 г альбумина, что составляет около 25–30% всего синтезированного белка в печени. При этом за синтез альбумина отвечают только 20–30% всех гепатоцитов [120]. Синтезированный белок не накапливается печенью, а поступает в воротную циркуляцию [114]. Этот процесс регулируется рН-зависимым рецептором неонатального кристаллизующегося фрагмента (FcRn). FcRn связывает альбумин на поверхности гепатоцитов и эндотелиальных клеток, перенаправляя альбумин в сосудистое русло, минуя желчь и внеклеточное пространство. Хотя эпителиальные клетки почечных канальцев также экспрессируют рецептор FcRn, рециркуляция альбумина и поддержание его уровня в плазме зависят от экспрессии FcRn гепатоцитами и эндотелиальными клетками, а отсутствие рецептора FcRn на поверхности гепатоцитов и эндотелиальных клеток приводит к развитию гипоальбуминемии [44].

Также известно, что FcRn рецептор предотвращает лизосомальную деградацию альбумина, способствуя увеличению его периода полувыведения. Низкий эндосомный рН способствует соединению здорового альбумина и FcRn в подкисленной эндосоме. Когда рециркулирующая эндосома контактирует с более высоким рН плазмы, нормальный альбумин выделяется в системный кровоток [44].

Около 30–40% альбумина остается в плазме, остальная часть перераспределяется в интерстициальное пространство со скоростью 4–5% в час. Из интерстиции альбумин попадает в лимфатические каналы и, в конечном итоге, возвращается в системный кровоток [22, 114].

Скорость, с которой альбумин покидает компартмент плазмы, определяется законом Старлинга. При циррозе величина градиента изменяется из-за повышения сосудистой проницаемости, что, в свою очередь, увеличивает скорость перераспределения альбумина до 9–11% в час. Сохраняющаяся задержка натрия и воды у пациентов с циррозом печени приводит к гемодилюции и снижению концентрации альбумина. Эти факторы в сочетании со сниженной белково-синтетической функцией печени при циррозе приводят к гипоальбуминемии [63].

Синтез альбумина также зависит от гормонов, таких как стероиды, инсулин и глюкагон. В частности, было показано, что стероиды усиливают экспрессию генов альбумина на животных моделях [73, 89].

Катаболизм альбумина осуществляется вблизи сосудистого эндотелия, а его деградации способствует предсердный натрийуретический фактор [80]. Рецепторы $gp18$ и $gp30$, экспрессируемые во многих тканях, регулируют деградацию альбумина и демонстрируют более высокое сродство к химически модифицированному альбумину (окисленному альбумину). В дальнейшем, этот модифицированный альбумин разрушается в лизосомах [44].

Свойства альбумина

Еще не так давно клинические эффекты альбумина объяснялись почти исключительно его способностью увеличивать объем плазмы крови, тем самым противодействуя гиповолемии и связанными с ней гемодинамическими изменениями, которые характерны для прогрессирующего цирроза печени. Альбумин является основным модулятором распределения жидкости между компартментами тела, на него приходится около 70–80% онкотического давления плазмы [77]. Онкотические свойства альбумина обусловлены осмотическим эффектом, непосредственно связанным с его молекулярной массой (около $2/3$), и эффектом Гиббса – Доннана (около $1/3$) [77]. Эффект Гиббса – Доннана заключается в способности отрицательно заряженного альбумина притягивать положительно заряженные молекулы, такие как натрий, таким образом, вызывая перемещение воды из внесосудистого во внутрисосудистое пространство [77, 107].

Однако в последнее десятилетие экспериментальные и клинические данные показали, что ряд важных функций альбумина также обусловлен неонкотическими свойствами молекулы и связан с конформационной структурой молекулы. Альбумин играет важную роль в связывании, транспорте и детоксикации многих эндогенных и экзогенных соединений, модулирует воспалительный и иммунный ответ, стабилизирует эндотелий, участвует в регуляции свертывания крови и функции тромбоцитов [10, 47].

Антиоксидантная функция альбумина

Антиоксидантные свойства ЧА, связанные с лиганд-связывающей способностью

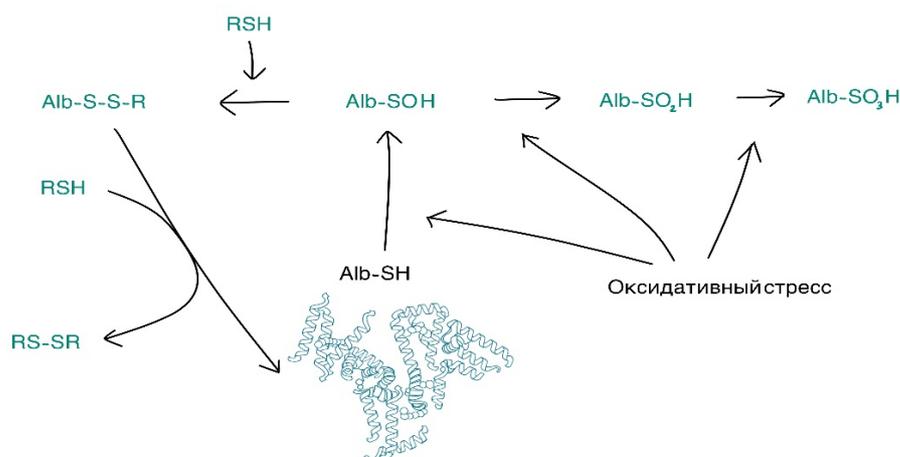
ЧА проявляет специфические антиоксидантные функции благодаря своей способности связывания множества лигандов и свойствам инактивации свободных радикалов, которые зависят от его структурной организации [125]. Основными лигандами ЧА, участвующими в прямых или косвенных антиоксидантных функциях белка, являются ионы переходных металлов (в основном меди и железа) [130]. Свободные ионы переходных металлов (Cu (II) и Fe (II)) выступают в качестве прооксидантов. При взаимодействии с перекисью водорода (H_2O_2) они вступают в реакцию Фентона, катализируя образование активных форм кислорода (АФК) [119]. Связывание белков со свободными переходными металлами существенно ограничивает доступность последних для участия в реакции Фентона [67]. Таким образом, альбумин выступает в роли акцептора радикалов свободной тиольной группой на остатке Cys-34 [78, 113]. М. Khosravifarsani и соавторы подтверждают эти данные, предполагая, что антиоксидантная активность альбумина связана с простым восстановлением сульфгидрильных групп на Cys-34 в результате возросшего количества радикалов ОН, продуцируемых системой Фентона [67]. Другие аспекты антиоксидантной активности альбумина обусловлены его способностью связывать билирубин, гомоцистеин и липиды, но имеют второстепенное значение по сравнению с участием ионов металлов в антиоксидантных свойствах ЧА [125].

Антиоксидантные свойства ЧА, связанные с захватом свободных радикалов

В физиологических условиях большая часть молекул альбумина (Alb) (2/3) находится в восстановленной форме со свободным тиолом в остатке Cys-34 (Alb-SH – меркаптальбумин человека), который способен улавливать несколько реактивных форм кислорода и азота таких как перекись водорода (H_2O_2), пероксинитрит ($ONOO^-$), супероксид или хлорноватистая кислота ($HOCl$), выполняя функцию нейтрализации свободных радикалов [125, 130].

При окислительном стрессе, обусловленном взаимодействием с пероксинитритом или перекисью водорода тиол Cys34 переходит в открытую

конформацию и сам окисляется, что приводит к образованию сульфеновой кислоты (Alb-SOH). Сульфеновая кислота является центральным промежуточным продуктом в окислительно-восстановительных реакциях. Конечный результат окислительного процесса зависит от того, окисляется ли сульфеновая кислота дальше или восстанавливается до Alb-SH. Сульфеновая кислота может быть окислена до конечных продуктов – сульфиновой (Alb-SO₂H) или сульфоновой (Alb-SO₃H) кислот. Сульфеновая кислота также может быть превращена в дисульфид (Alb-SSR) посредством реакций с тиолом с низкой молекулярной массой (RSH, глутатион или свободный цистеин), что позволяет альбумину вернуться в восстановленную форму Alb-SH [104]. Это участие ЧА в образовании дисульфидов поддерживает важную функцию Alb-SH как внеклеточного редокс-регулятора [125] (Рисунок 4).



Примечание – В физиологических условиях 2/3 молекул альбумина находятся в восстановленной форме со свободным остатком Cys-34 (Alb-SH) – меркаптальбумин. При окислительном стрессе Cys-34 окисляется с образованием сульфеновой кислоты (Alb-SOH). Сульфеновая кислота может быть окислена до конечных продуктов – сульфиновой (Alb-SO₂H) или сульфоновой (Alb-SO₃H) кислот, либо превращена в дисульфид (Alb-SSR) с последующим возвращением в восстановленную форму – меркаптальбумин (Alb-SH)

Рисунок 4 – Молекула сывороточного альбумина в условиях окислительного стресса

Роль альбумина как модулятора воспалительных и иммунологических реакций привлекает все больший интерес исследователей [77]. Некоторые работы показывают, что альбумин способен оказывать влияние на окислительно-

восстановительное состояние и биодоступность многих молекул, участвующих в процессах иммунного и воспалительного ответа [7, 77].

Примерами воспалительной активации являются связывание бактериальных продуктов (например, липополисахарида) [50, 76] или простагландина E₂ (ПГ E₂) [126, 77]. Однако более поздние данные показывают, что после захвата иммунными клетками в ранних эндосомах альбумин также снижает продукцию цитокинов, блокируя передачу сигналов TLR3 и TLR4 [72]. Кроме того, альбумин может активно участвовать в иммунном ответе: одним из примеров является его способность специфически связывать токсин *Clostridium difficile* в домене II в экспериментальной модели эмбрионов зебры, так что альбумин предотвращает проникновение токсина в клетки хозяина. Также, в данном исследовании получена корреляционная взаимосвязь между гипоальбуминемией и тяжестью течения клостридиальной инфекции [79, 77].

Наконец, альбумин регулирует проницаемость капилляров, связывая эндотелиальный внеклеточный матрикс, тем самым модулируя транскапиллярный обмен жидкости. Предполагается, что ЧА отвечает за проницаемость мембран. Гипотеза механизма обусловлена связыванием ЧА с субэндотелием и интерстициальными слоями, а затем изменением их проницаемости [41].

Сообщается, что ЧА имеет нейропротективную функцию в отношении нейронов и глиальных клеток и регулирует кровообращение в головном мозге. Так, на основании экспериментальной модели ишемии и болезни Альцгеймера, можно предположить, что введение ЧА оказывает нейропротекторную функцию за счет антиоксидантных свойств молекулы, также альбумин ингибирует полимеризацию и увеличивает клиренс амилоида β [112].

Посттрансляционные модификации

Длительный период полураспада сывороточного альбумина обуславливает его высокую чувствительность к различным посттрансляционным модификациям, в частности к гликозильрованию. Сывороточный альбумин имеет 85 сайтов гликозильрования, включая 59 остатков лизина и 24 остатка аргинина [75]. Гликозильрование альбумина, как и других сывороточных белков, начинается с

присоединения глюкозы к N-концевому остатку альбумина (или остаткам лизина или аргинина). В результате данного взаимодействия через неустойчивое промежуточное соединение, называемое основанием Шиффа, образуется стабильная форма (форма Амадори). Гликозилирование сывороточного альбумина изменяет его дву- и трехмерную структуру, особенно путем спиралевидного образования бета-листа. Изменение конформационного статуса альбумина приводит к снижению антиоксидантной активности за счет уменьшения количества тиоловых групп и изменения связывающих свойств альбумина. Транспортная функция также снижается за счет затруднения распознавания и связывания лигандов с альбумином [70, 81, 116].

Гликозилирование альбумина может оказывать различное влияние на его способность связывать лекарственные препараты. При этом, аффинность связывания обычно снижается, например, для сульфонилмочевины, салицилата и ибупрофена [51, 85, 100]. Однако в ряде случаев сродство альбумина остается неизменным для некоторых других препаратов, таких как диазепам и напроксен [74].

Гликозилированный альбумин приобретает патологический фенотип, вызывает необратимое повреждение органов и тканей и органов-мишеней при развитии осложнений сахарного диабета. Например, гликозилированный альбумин способствует повреждению почек за счет увеличения продукции эпителиальными и мезангиальными клетками прооксидантных молекул. Что касается сердечно-сосудистых заболеваний, то гликозилированный альбумин реагирует в основном через активацию рецепторов конечных продуктов гликозилирования (RAGE-рецептор) [38, 84]. Он ускоряет окисление и играет важную роль в активации и агрегации тромбоцитов, а также стимулирует экспрессию молекул адгезии, способствующих образованию атеросклеротических бляшек [6, 84]. Гликозилированный альбумин также способствует инсулинорезистентности, стимулируя выработку внутриклеточных активных форм кислорода, которые, в свою очередь, ингибируют трансмембранный транспорт глюкозы в мышечных клетках и адипоцитах [3, 33, 137].

Гликозилированный гемоглобин (HbA1c) служит эталонным тестом для длительного мониторинга уровня глюкозы. Однако применение HbA1c в качестве диагностического маркера СД не рекомендуется при ряде состояний, таких как гемоглобинопатии, беременность или хронические заболевания почек. Количественное определение сывороточного гликозилированного альбумина может служить альтернативой в этих ситуациях [137]. Результаты недавних исследований показывают, что посттрансляционные модификации человеческого альбумина (ЧА), такие как окисление, гликозилирование, усечение, димеризация и карбамилирование, связаны с определенными типами заболеваний.

Так, группой ученых во главе с М. Domenicali [110] проводилось исследование, направленное на выявление структурных изменений ЧА, возникающих при циррозе, и определение их связи с конкретными клиническими осложнениями и выживаемостью пациентов. В исследование были включены сто шестьдесят восемь пациентов с циррозом печени; из них 35 пациентов со стабильным состоянием и 133 пациента с осложнениями на фоне декомпенсации цирроза; а также – 94 здоровых пациента контрольной группы. С помощью высокоаффинной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением в дополнение к собственной изоформе ЧА, удалось идентифицировать семь изоформ с одним или двумя изменениями: усечение двух последних остатков аминокислот в N-концевой части (HSA-DA); усечение последнего аминокислотного остатка в C-концевой части (HSA-L); цистеинилирование остатка Cys34(HSA₁CYS); сульфинилирование остатка Cys-34 (HSA₁SO₂H); и гликозилирование (HSA₁GLYC). Кроме того, две дополнительные изоформы HSA были получены из комбинации цистеинилированной с N-концевой усеченной формой (HSA₁CYS-DA) или гликозилированной формой (HSA₁CYS₁GLYC) [110]. Было установлено, что у пациентов с циррозом печени возникают существенные посттранскрипционные изменения ЧА, затрагивающие несколько молекулярных сайтов и увеличивающиеся параллельно с тяжестью заболевания.

Вместе с тем, у здоровых лиц данные изменения регистрировались значительно реже. Нативная, неизменная, изоформа ЧА была значительно снижена при циррозе. Нативный ЧА и большинство измененных изоформ коррелировали как с баллами по шкале Чайлд – Пью, так и с результатами модели терминальной стадии заболевания печени. У госпитализированных пациентов окисленные и усеченные по N-концу изоформы были независимо связаны с асцитом, почечной недостаточностью и бактериальной инфекцией. Наконец, нативный ЧА и цистенилированные или укороченные на N-конце изоформы были предикторами годичной выживаемости с большей прогностической точностью, чем общая концентрация сывороточного альбумина. Полученные данные легли в основу концепции «эффективной концентрации альбумина», которая подразумевает, что глобальная функция ЧА связана не только с его концентрацией в сыворотке, но и с сохранением его структурной целостности [61, 66].

Вместе с тем, небольшая по объему выборка пациентов и большое количество различных модификаций альбумина, выявленных исследователями, не позволяют получить достоверных данных об изменении функциональной полноценности альбумина при различных осложнениях декомпенсированного ЦП; это требует дальнейших научных исследований в данной области.

Примечательно, что высокий уровень немеркаптальбумина человека (немеркаптальбумин – необратимо окисленная форма альбумина [HNA]) способен изменять функцию иммунных клеток у пациентов с циррозом печени по сравнению со здоровыми людьми [105]. У данной группы пациентов воспаление развивается за счет продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1, ФНО- α и ИЛ-8), а последующий цитокиновый шторм инициируется активированными лейкоцитами. Далее ЧА увеличивает уровень воспалительных эйкозаноидов (ПГ E2, ПГ F2a, тромбоксана B2 и лейкотриена B4). Влияние ЧА на иммунные клетки при цитокиновом шторме вызывается фосфорилированием p38 митоген-активированной протеинкиназы с последующей активацией транскрипционных факторов, что, в конечном счете, приводит к гиперпродукции воспалительных

цитокинов [106]. Кульминацией системного воспаления является развитие бактериального перитонита, осложняющегося декомпенсацией функций печени. В лабораторных показателях данной группы пациентов определяются более очевидные признаки системного воспаления (высокий уровень С-реактивного белка [СРБ] в плазме; растворимые воспалительные медиаторы [провоспалительные и противовоспалительные цитокины и хемокины]), а также показатели оксидативного стресса (необратимая форма альбумина человека – немеркаптальбумин 2 [HNA2]), чем у здоровых лиц и пациентов с компенсированным циррозом печени [44].

Практическое применение высококонцентрированного альбумина человека

Развитие таких клинических осложнений, как печеночная энцефалопатия, асцит, кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода (ВРВП) и желудка, гепаторенальный синдром (ГРС), инфекционные осложнения, свидетельствуют о декомпенсации заболевания и ассоциированы с резким ухудшением прогноза [136].

Асцит является одним из наиболее частых осложнений цирроза печени, наряду с кровотечением из ВРВП и печеночной энцефалопатией. Нередко это первый признак декомпенсированного цирроза печени с портальной гипертензией.

Из всех пациентов с компенсированным циррозом печени трансформация до декомпенсированного цирроза происходит со скоростью 5–7% пациентов в год, и примерно у 50% больных асцит развивается в течение 10 лет после установления диагноза цирроза печени. Годовая и двухлетняя выживаемость пациентов с декомпенсированным циррозом, осложненным асцитом, составляет 60% и 45% соответственно, что значительно ниже, чем годовая и двухлетняя выживаемость (95% и 90%) у пациентов с компенсированным циррозом печени [60, 88]. Клиническое течение декомпенсированного цирроза неуклонно утяжеляется, что приводит к смерти, либо необходимости трансплантации печени. Одним из состояний, ускоряющих декомпенсацию цирроза, служит развитие обострения хронической печеночной недостаточности (ACLF), клинического синдрома, спровоцированного печеночными или системными

поражениями, и характеризующегося печеночной и/или внепеченочной органной недостаточностью [136] и высокой краткосрочной смертностью, несмотря на ее потенциальную обратимость [57, 71, 121].

Пациенты с декомпенсированным ЦП подвержены риску бактериальных инфекций, возникающих у 46% всех госпитализированных пациентов с декомпенсированным циррозом [82, 83]. Развитие бактериальных инфекции нередко сочетается с дисбиозом и повышением проницаемости кишечной стенки; иммунной дисфункцией и порто-системным шунтированием [52]. Среди западной популяции пациентов бактериальная инфекция служит наиболее частым провоцирующим фактором развития декомпенсации хронической печеночной недостаточности, ассоциированной с высоким уровнем смертности в течение 28 дней [57]. Системное распространение бактерий и бактериальных токсинов из-за бактериальной транслокации создают предпосылки для формирования устойчивого воспалительного и прооксидантного состояния [96]. Провоспалительные цитокины, а также высокореактивные формы кислорода и азота приводят к системной дисфункции кровообращения и эффективной гиповолемии [96, 136]. Системные гемодинамические нарушения и воспаление ведут к полиорганной дисфункции и, в конечном итоге, к смерти [13, 54, 136]. За счет иммуномодулирующих и антиоксидантных свойств, возможности увеличивать эффективный объем крови, альбумин способен предотвращать развитие подобного грозного осложнения [136]. Вместе с тем, работ и систематических обзоров, достоверно доказывающих подобные свойства альбумина, недостаточно. Это создает предпосылки для дальнейших исследований в данной области.

Особенности изменения сывороточного альбумина у пациентов с ЦП

У пациентов с прогрессирующим циррозом печени часто наблюдается снижение концентрации сывороточного альбумина, связанное с нарушением белково-синтетической функции печени, увеличением проницаемости капилляров, гемодилюцией вследствие задержки натрия и воды [63, 136]. Однако изменения сывороточного альбумина при циррозе печени носят не только

количественный, но и качественный характер. Результаты исследований свидетельствуют о том, что в условиях ЦП молекула альбумина претерпевает функциональные и структурные изменения [42], которые усугубляются параллельно с нарастанием степени декомпенсации цирроза. Данные структурные и функциональные модификации ассоциированы с возникновением осложнений ЦП. Также они могут использоваться в качестве предиктора выживаемости более точно, чем общая концентрация сывороточного альбумина [87]. Таким образом, у пациентов с прогрессирующим циррозом печени наблюдается не только снижение общей концентрации сывороточного альбумина, но и, в еще большей степени, снижение сывороточного содержания **эффективного** альбумина, то есть нативной, функционально интактной изоформы молекулы [61, 136]. Вместе с тем, в имеющихся в литературе данных, нет информации о зависимости подобных изменений от осложнений цирроза, возможности коррекции функций альбумина на фоне заместительной терапии альбумином и влиянии подобной коррекции на прогноз течения заболевания и выживаемость пациентов с декомпенсированным ЦП.

Человеческий альбумин широко используется у пациентов с декомпенсированным циррозом печени. Показания к заместительной терапии альбумином коротким курсом включают спонтанный бактериальный перитонит (СБП), объемный парацентез, острую почечную недостаточность [62, 64]. Однако в клинической практике трансфузия альбумина, в ряде случаев, используется помимо этих показаний. Одним из перспективных направлений является длительная заместительная терапия альбумином у больных декомпенсированным ЦП и асцитом [69, 93].

Объемный парацентез

Частота дисфункции кровообращения, вызванной парацентезом варьирует от 17,1% до 72,7%, в зависимости от того, проводилась ли инфузия альбумина во время парацентеза [47]. Циркуляторная дисфункция проявляется повышением уровня ренина в сыворотке не менее чем на 50% и более в течение 6 дней после объемного парацентеза [125]. Роль инфузии альбумина при объемном парацентезе

оценивалась в нескольких исследованиях. Показано, что инфузия альбумина (6–8 г/л дренируемой асцитической жидкости) предотвращает развитие циркуляторной дисфункции при парацентезе свыше 5 л [118, 125, 130]. В мета-анализе рандомизированных исследований инфузия альбумина связана с более низким риском дисфункции кровообращения (OR = 0,39; 95%-й ДИ 0,27–0,55) и смертностью (OR = 0,64; 95%-й ДИ 0,41–0,98) после парацентеза [47]. В частности, у всех включенных в исследования было удалено более 5 л асцитической жидкости; в большинстве исследований вводили 6–8 г 20% альбумина на 1 л удаленной асцитической жидкости. Европейской ассоциацией по изучению печени (EASL) и Американской ассоциацией по изучению заболеваний печени (AASLD) в настоящее время рекомендовано восполнение ОЦК после объемного парацентеза (более 5 л) из расчета 8 г 20% альбумина на каждый литр [136] удаленной асцитической жидкости [17, 18, 64, 111].

Спонтанный бактериальный перитонит (СБП)

В первом рандомизированном исследовании, в котором изучалась роль внутривенной инфузии альбумина при СБП, Sort и соавт. [65] продемонстрировали, что инфузия альбумина и цефотаксим значительно снижали риск почечной недостаточности (33% против 10%), стационарной смертности (29% против 10%) и 3-месячной смертности (41% против 22%) [65]. Преимущества альбумина, особенно у пациентов с высоким риском развития почечной недостаточности (исходный уровень билирубина в сыворотке ≥ 4 мг/дл или креатинина ≥ 1 мг/дл), впоследствии были подтверждены в метаанализе рандомизированных исследований [122].

Гепаторенальный синдром

Комбинированное назначение альбумина с терлипрессином (терапия первой линии) или норадреналином – представляет собой современный стандарт лечения ГРС. Положительный эффект данной комбинации заключается в поддержании эффективной волемии за счет снижения активности ренина плазмы и поддержания артериального давления [128, 136]. Savallin и соавт. обнаружили, что альбумин в комбинации с терлипрессином более эффективны в улучшении

функции почек, повышали выживаемость у пациентов, ответивших на терапию, в сравнении с комбинацией альбумина, мидодрина и октреотида [129, 136]. Кроме того, R. U. Saif с соавторами заметили, что введение терлипрессина или норадrenalина в сочетании с альбумином эффективно для купирования ГРС [136]. Пациенты, ответившие на данное лечение, имели большую продолжительность жизни, что увеличивало их шансы на пересадку печени [99]. В метаанализе, включившем 1185 пациентов из 23 исследований, сравнивали преимущества и недостатки различных схем лечения ГРС у пациентов с декомпенсированным ЦП [123]. У пациентов, получавших норадrenalин в сочетании с альбумином, было меньше побочных эффектов (соотношение частоты: 0,51), а у тех, кто получал терлипрессин с альбумином, снизились проявления ГРС по сравнению с комбинацией мидодрин плюс октреотид, плюс альбумин или октреотид плюс альбумин [136]. Вместе с тем, включенные доказательства, были оценены как имеющие очень низкую достоверность (исследования, как правило, были небольшими, с высоким процентом выбывания и различной продолжительностью последующего наблюдения).

Таким образом, применение альбумина в сочетании с вазоконстрикторами показало максимальную эффективность в лечении ГРС, что увеличивало шансы пациентов на трансплантацию печени.

В клинической практике трансфузии альбумина в ряде случаев используется помимо вышеуказанных показаний. Одним из многообещающих направлений является длительная заместительная терапия альбумином у больных декомпенсированным ЦП и асцитом. Вместе с тем, несмотря на большое внимание к применению альбумина у пациентов с ЦП, роль функциональной неполноценности его молекулы по сей день не нашла своего отражения в подавляющем большинстве работ.

Длительное использование раствора альбумина человека в клинической практике

В 1960-х годах Wilkinson и Sherlock были одними из первых, кто взялся за изучение роли длительной трансфузии альбумина [135]. Они рандомизировали 16

пациентов с рефрактерным к диуретикам асцитом для последующей инфузии альбумина и стандартной медикаментозной терапии (СМТ) [135]. Инфузию альбумина титровали на основе онкотического давления сыворотки и поддерживали до 19 месяцев. Ученые пришли к выводу, что длительные трансфузии альбумина не улучшали общую выживаемость и не снижали потребность в диуретиках.

В другом одноцентровом рандомизированном исследовании Gentilini с соавторами включили 126 пациентов с рефрактерным асцитом [43]. Пациенты получали еженедельную инфузию альбумина по 25 г в течение первого года, затем по 25 г каждые две недели до 3 лет. Было показано, что длительная трансфузионная терапия альбумином приводила к уменьшению числа рецидивов асцита и повторных госпитализации, связанных с асцитом. Однако улучшения общей выживаемости не обнаружено. Впоследствии та же группа провела исследование через 7 лет в 2006 г., оценивая отдаленные результаты длительной инфузии альбумина, с продлением периода наблюдения до 84 месяцев [94]. Пациенты ($n = 100$) со впервые выявленным клинически значимым асцитом, были рандомизированы для лечения по стандартной схеме, либо с использованием альбумина. Наблюдался благоприятный эффект в отношении лечения асцита с меньшим числом рецидивов (39% против 85%) в группе альбумина. Было показано, что долгосрочная заместительная терапия впервые улучшила 5-летнюю выживаемость (альбумин: 62% против 26%), даже несмотря на то, что размер выборки был относительно небольшим [94].

В исследовании ANSWER (человеческий альбумин для лечения асцита у пациентов с циррозом печени) включили 431 пациента с декомпенсированным циррозом печени и асцитом [93]. В этом исследовании длительные инфузии альбумина (40 г два раза в неделю в течение двух недель, затем 40 г еженедельно) в дополнение к стандартной терапии были связаны с более низкой смертностью (ОР 0,62; 95%-й ДИ 0,40–0,95) по сравнению с группой базисной терапии. На фоне применения альбумина контроль над асцитом был лучше, риск парацентеза ниже (HR 0,48; 95%-й ДИ 0,35–0,54) в том числе, снижался риск рефрактерного

асцита (HR 0,43; 95%-й ДИ 0,29–0,62). Кроме того, длительная инфузия альбумина была связана с более низким риском как СБП, так и не связанных с СБП бактериальных инфекций, ПЭ III и IV степени, ГРС, почечной дисфункции и гипонатриемии.

В другое проспективное, но не рандомизированное исследование Di Pascoli и соавторы [92] включили 70 пациентов с циррозом печени и рефрактерным асцитом, которым была назначена либо длительная инфузия альбумина, либо стандартная терапия [92], с первичной конечной точкой 24-месячной выживаемости. Субъекты в группе альбумина получали 20 г альбумина два раза в неделю. Исследование продемонстрировало значительное улучшение 24-месячной выживаемости в группе альбумина по сравнению со стандартным лечением (58% против 35% в группе базисной терапии), при среднем периоде наблюдения 408 дней. Кроме того, в группе альбумина был более низкий риск экстренных госпитализаций по поводу СБП, инфекции, не связанной с СБП, и ПЭ. Хотя частота трансплантаций печени была практически одинаковой в обеих группах (11% против 8% в группе стандартной терапии), следует подчеркнуть, что ни один из пациентов с рефрактерным асцитом не получил трансъюгулярного внутрипеченочного портосистемного шунта (TIPS).

Однако исследование MACHT (мидодрин и альбумин у пациентов с циррозом печени, находящихся в листе ожидания на трансплантацию печени) предложило противоположную точку зрения на влияние длительной заместительной терапии альбумином на выживаемость пациентов с декомпенсированным циррозом [98]. В этом многоцентровом, рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании 196 пациентам из листа ожидания на трансплантацию печени проводилась либо СМТ, либо заместительная терапия альбумином (40 г каждые 15 дней в течение одного года). В отличие от исследования ANSWER, различий в частоте осложнений, связанных с циррозом, контроле над асцитом и в общей выживаемости получено не было. Однако необходимо учесть, что между исследованиями ANSWER и MACHT существуют некоторые различия. В

последнем – продолжительность терапии альбумином была короче (около 80 дней), а использованная доза альбумина была ниже (40 г каждые 15 дней), чем во всех других исследованиях. Неспособность группы заместительной терапии альбумином показать лучшие результаты может быть связана с этими факторами.

Таким образом, на сегодняшний момент не существует оптимальной стратегии применения заместительной терапии альбумином. Противоречивые данные, касающиеся целесообразности длительной заместительной терапии альбумином, создают предпосылки для дальнейших исследований, а дороговизна заместительной терапии альбумином – к оптимизации его использования для достижения стойкой ремиссии.

Не изученным остаются показания к заместительной терапии альбумином и критерии ее окончания. На текущий момент ответа на эти вопросы не существует.

Известно, что ЦП приводит к снижению эффективного альбумина за счет развития его структурно-функциональной неполноценности. Однако до текущего момента не получены ответы на вопросы: приводит ли заместительная терапия альбумином к восстановлению или улучшению характеристик сывороточного альбумина, можно ли опираться на эти данные в выборе терапевтической стратегии?

В данной работе мы предприняли попытку восполнить обозначенные пробелы.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования было одобрено Локальным Комитетом по этике ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет) № 31-20 от 11.11.2020.

2.1 Дизайн исследования

За период времени с ноября 2020 года по декабрь 2022 года в отделении гепатологии Клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В. Х. Василенко (директор Клиники – академик РАН, профессор, д. м. н. В. Т. Ивашкин, заведующая отделением – к. м. н. М. С. Жаркова [12]) было обследовано 137 пациентов с диагнозом «цирроз печени». Из них 50 пациентов в возрасте от 20 до 79 лет были отобраны для исследования на основании соответствия критериям включения и несоответствия критериям исключения.

Включение пациентов в исследование проводилось после подписания информированного согласия. Критериями включения служили: установленный диагноз декомпенсированного цирроза печени на основании клинического, инструментального и лабораторного обследования; отечно-асцитический синдром; информированное согласие пациента на участие в клиническом исследовании.

Критериями, не позволяющими включить пациентов в исследование, являлись: возраст менее 18 лет, отказ от участия в исследовании и/или в подписании формы информированного согласия, трансъюгулярный внутрипеченочный шунт, гепатоцеллюлярная карцинома и другие онкологические заболевания, сердечная недостаточность, тромбоз воротной вены,

синдром Бадда – Киари, состояние после трансплантации печени, обострение хронических заболеваний, декомпенсация сопутствующей патологии, перенесенная новая коронавирусная инфекция Covid-19 в течение 14 недель, иммунодефицит (ВИЧ, СПИД), послеоперационный период (до 14 суток), сепсис, септический шок.

К критериям исключения отнесены: отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании, диагностированная во время исследования ГЦК, трансплантация печени.

Стационарное и амбулаторное ведение больных осуществлялось совместно с профессором, д. м. н. М. В. Маевской, врачами отделения к. м. н. А. В. Лапшиным, к. м. н. Ш. А. Ондос, к. м. н. П. Е. Ткаченко, И. Н. Тихоновым, А. С. Островской.

В группу здоровых добровольцев были включены 12 участников в возрасте от 18 до 69 лет, не имеющих заболеваний печени и другой сопутствующей патологии, способной повлиять на функции и структуру альбумина. Период наблюдения составил 24 месяца. Дизайн исследования представлен на Рисунке 5.

Проспективное контролируемое открытое клиническое исследование

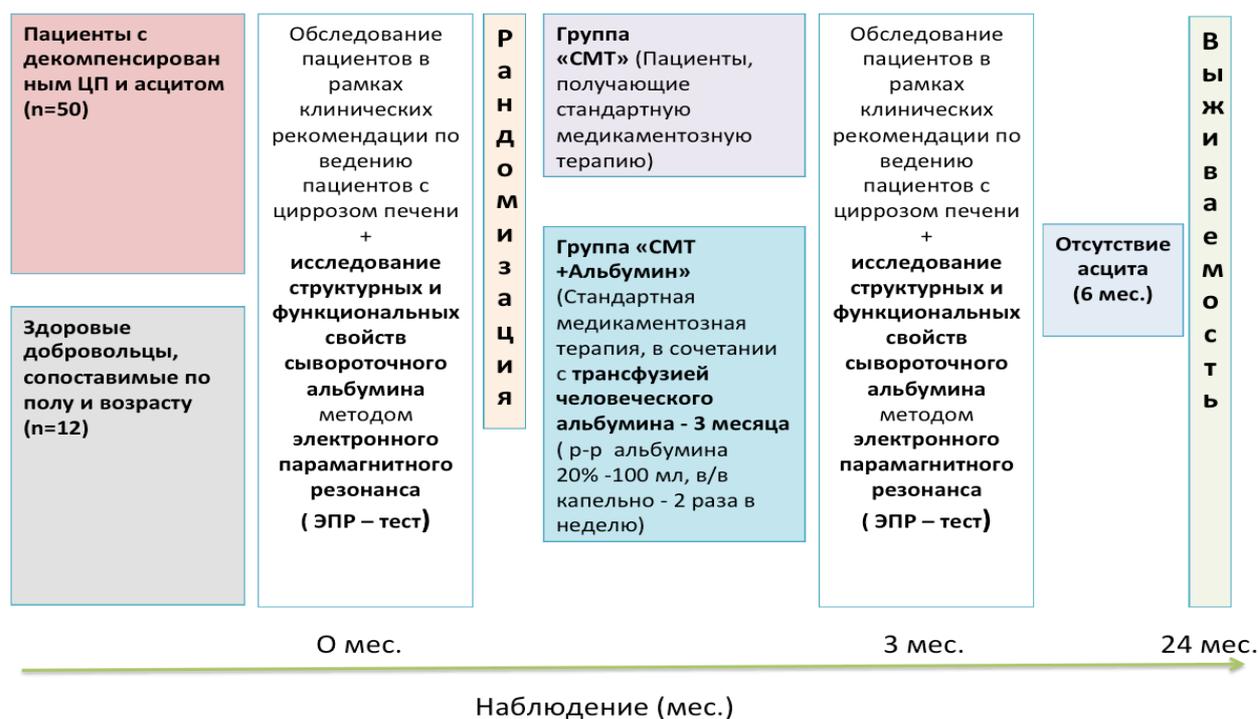


Рисунок 5 – Дизайн исследования

На первом этапе отобранным участникам исследования проводилось стандартное обследование (в рамках клинических рекомендаций) и исследование структурных и функциональных свойств альбумина методом ЭПР спектроскопии. Методом простой рандомизации 50 пациентов были разделены на 2 группы: «СМТ» и «СМТ + Альбумин».

Вторым этапом, через 3 месяца терапии, оценивались следующие клинико-лабораторные и инструментальные показатели: наличие асцитического синдрома, желтухи, ПЭ, уровень маркеров воспаления (СОЭ, СРБ), натрия и креатинина, структурно-функциональная полноценность альбумина. После отмены заместительной терапии альбумином – в течение 3 последующих месяцев оценивалось отсутствие асцита.

Выживаемость оценивалась за период наблюдения – 24 месяца.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клиническое обследование пациентов

Диагноз ЦП устанавливался на основании данных физикального обследования пациентов [18] результатов лабораторного (клинический, биохимический анализы крови, коагулограмма), инструментального обследования (ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эзофагогастродуоденоскопия, в отдельных случаях компьютерная томография органов брюшной полости) [12]. Дополнительно всем участникам исследование проводился анализ структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина методом ЭПР спектроскопии.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости выполнялось врачами отделения ультразвуковой диагностики УКБ № 2 ФГАОУ

ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет) с использованием аппарата Voluson 730 фирмы «General Electric» (США) по стандартной методике.

Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) проводилась врачами отделения лечебно-диагностической эндоскопии УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет) с применением гастроскопа Pentax EG 29-i10 (Япония).

На основании комплексного обследования определялась этиология цирроза и степень тяжести поражения печени. Последнее оценивалось с помощью модифицированной классификации степени тяжести циррозов по Child – Pugh (Таблица 1) [12, 18].

Таблица 1 – Классификация степени тяжести цирроза по Child – Pugh

Показатель	Баллы		
	1	2	3
Асцит	Нет	Небольшой	Умеренный/большой
Энцефалопатия	Нет	Небольшая/умеренная	Умеренная/выраженная
Уровень билирубина (мг/дл)	< 2,0	2–3	> 3,0
Уровень альбумина (мг/л)	> 3,5	2,8–3,5	< 2,8
Удлинение ПВ (сек.)	1–3	4–6	> 6,0
Общее количество баллов			Класс
5–6			А
7–9			В
10–15			С

Степень выраженности асцита определяли согласно критериям Международного Клуба по изучению асцита (IAC) [18]. Выделяют 3 степени асцита в зависимости от его выраженности: 1-я степень – жидкость в брюшной полости определяется только при ультразвуковом исследовании; 2-я степень проявляется симметричным увеличением живота; 3-я степень представляет собой

напряженный асцит. Проявления печёночной энцефалопатии классифицировались в соответствии со стадиями, представленными в Таблице 2 [12, 18, 64, 69].

Таблица 2 – Классификация печёночной энцефалопатии (ПЭ)

Стадия		Сознание	Интеллектуальный статус, поведение	Неврологический статус
Минимальная (латентная)	Скрытая	Не изменено	Не изменены	Изменения выявляются при проведении психометрических тестов
1-я (легкая)		Сонливость, нарушение ритма сна	Снижение внимания, трудность концентрации, забывчивость	Мелкоразмашистый тремор, изменение почерка
2-я (средняя)	Явная	Летаргия, апатия	Дезориентация, неадекватное поведение	Астериксис, атаксия
3-я (тяжелая)		Сомноленция, дезориентация	Дезориентация, агрессия, глубокая амнезия	Астериксис, повышение рефлексов, спастичность
4-я (кома)		Отсутствие сознания и реакции на боль	Отсутствует	Арефлексия, потеря тонуса
<i>Примечание</i> – Согласно новой классификации ПЭ, к скрытой форме относят минимальную форму (ранее – латентная) и энцефалопатию 1-й стадии. К явной – выше 2-й стадии [69]				

2.2.2 Спектроскопия спинового зонда с применением электронного парамагнитного резонанса (ЭПР-спектроскопия)

Для оценки структурных и функциональных свойств альбумина в сыворотке крови использовался метод ЭПР-спектроскопии [28]. Тест состоял из двух этапов: пробоподготовка и измерение.

На первом этапе в течение трех дней с момента поступления в стационар, производился забор крови из плечевой вены в вакуумные пробирки 2 мл. Образцы крови центрифугировали в стандартных условиях при ускорении 1500 g в течение

10 минут, после осаждения супернатант переливали во вторичную пробирку. Образцы хранили при температуре ниже минус 20 градусов до момента анализа, но не более 6 месяцев.

На втором этапе вторичная пробирка помещалась в автоматический пробоподготовщик, который дозирует сыворотку в лунке микропланшета и добавляет необходимое количество реагента. Из вторичной пробирки микропланшета в три лунки помещается 50 мкл сыворотки. К сыворотке добавляется 10, 12 и 14 мкл реагента разной концентрации. Реагенты содержат разные концентрации спиновой метки – специальный тип жирной кислоты, меченный отрицательным радикалом. Это необходимо для визуализации взаимодействия альбумина в сыворотке крови. За это время весь сывороточный альбумин в образце связывался с реагентом и в растворе устанавливалось химическое равновесие. При помощи капилляров всю реакционную смесь помещали в анализатор.

Принцип ЭПР основан на взаимодействии вещества с магнитным полем. При активации пучком микроволнового излучения возникают колебания метки, амплитуда и частота колебаний зависят от того, находится ли метка в связанном состоянии с различными сайтами связывания альбумина или в свободном состоянии. По соотношению быстрых и медленных колебаний и по интенсивности колебаний метки детектор автоматически строит спектр. Разные спектры формируются для здоровых людей и пациентов с декомпенсацией печеночной функции, а также для пациентов с онкологическими заболеваниями, которые исключались из исследования [1, 28, 31, 46].

Измерения производили на анализаторе «ESR-Analysator MMS 01-08» производителя «MedInnovation GmbH», Германия. Набор реагентов для определения *in vitro* функциональности альбумина в сыворотке крови методом спинового зонда «MMS-kit-SA01», производителя «MedInnovation GmbH», Германия.

В ходе исследования оценивали следующие показатели:

– **DR** (дискриминантный параметр) – Determination Ratio. Это диагностический результат, характеризующий молекулу альбумина, степень конформационной подвижности, гибкость сывороточного альбумина. Данный параметр способен меняться в связи с накоплением в молекуле альбумина низкомолекулярных метаболитов;

– **BE** – Binding Efficiency – связывающая эффективность, физико-химическая характеристика сайтов связывания жирных кислот;

– **RTQ** – Real Transport Quality – транспортная эффективность;

– **DTE** – Detoxification Efficiency – детоксикационная способность, характеризующая эффективность связывания и эвакуации эндотоксинов альбумином [49].

Величины показателей функциональности альбумина выражаются в процентах, показатель нативности конформации – в условных единицах.

Структурно-функциональные характеристики альбумина оценивались по следующим референсным значениям:

– величина DR (Нативность конформации альбумина) менее 0,8 свидетельствовала о выявлении патологической конформации альбумина;

– снижению BE (Связывающая эффективность альбумина) соответствовало значение менее 60%;

– RTQ (Транспортная эффективность альбумина) считалась нарушенной при показателе ниже 55%;

– DTE (Детоксикационная эффективность альбумина) определялась как сниженная при результате менее 40%.

Исследование проводилось на базе лаборатории ООО НПФ «Хеликс». Постановка всех реакций осуществлялась в соответствии с инструкциями фирмы-изготовителя.

2.2.3 Статистическая обработка данных

Ведение базы данных пациентов проводилось с помощью программы MS Excel [3, 26, 37].

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.8 (разработчик – ООО «Статтех», Россия).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова – Смирнова (при числе исследуемых более 50).

Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95%-го доверительного интервала (95%-го ДИ).

В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента [2, 7, 10, 20, 29, 34].

Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий), критерия Геймса – Хауэлла (при неравных дисперсиях).

Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна – Уитни.

Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела – Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в двух связанных группах, использовался критерий Уилкоксона.

При сравнении трех и более зависимых совокупностей, распределение которых отличалось от нормального, использовался непараметрический критерий Фридмана с апостериорными сравнениями с помощью критерия Коновера – Имана с поправкой Холма.

Сравнение бинарных показателей, характеризующих две связанные совокупности, выполнялось с помощью теста МакНемара.

Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10) [2, 10, 13, 15, 20, 29, 34, 39].

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка.

Оценка функции выживаемости пациентов проводилась по методу Каплана – Мейера. График оценки функции выживаемости представляет из себя убывающую ступенчатую линию, значения функции выживаемости между точками наблюдений считаются константными. Метод Каплана – Мейера

позволяет выполнять анализ цензурированных данных, т.е. оценивать выживаемость с учетом того, что пациенты могут выбывать в ходе эксперимента или иметь разные сроки наблюдения.

Анализ выживаемости пациентов проводился по методу регрессии Кокса, подразумевающему прогнозирование риска наступления события для рассматриваемого объекта и оценку влияния заранее определенных независимых переменных (предикторов) на этот риск. Риск рассматривается как функция, зависящая от времени. Базовые предположения, лежащие в основе метода, состоят в том, что все объясняющие переменные независимы, линейно влияют на риск наступления события, а также что риски наступления события для любых двух объектов в любой отрезок времени пропорциональны [25].

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

При вероятности ошибки ($p < 0,05$) значения считались достоверными.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Характеристика объектов исследования, их исходные лабораторно-инструментальные и клинические данные

3.1.1 Характеристика включенных в исследование пациентов с циррозом печени (ЦП) и здоровых добровольцев

При анализе полученных данных, группы были сопоставимы по следующим параметрам: по демографическим характеристикам (пол и возраст); изучаемым клиническим признакам (степень выраженности асцита, ПЭ, наличие желтухи, ВРВП и желудка); изучаемым лабораторным данным (уровень альбумина, показатель DR, связывающая, транспортная, детоксикационная активность, уровень натрия, креатинина, МНО, СРБ, СОЭ).

Группы преимущественно составляли женщины ($p = 0,914$) (*используемый метод: Хи-квадрат Пирсона*). Средний возраст пациентов в группе «СМТ + Альбумин» составлял 53 ± 11 года, группы «СМТ» – 52 ± 13 , здоровых лиц – 44 ± 15 года. Статистически значимых различий выявлено не было ($p = 0,116$) (*используемый метод: F-критерий Фишера*).

Распределение по полу и возрасту участников исследования представлено в Таблицах 3 и 4, соответственно.

Таблица 3 – Распределение по полу в зависимости от исследуемых групп

Показатели	Категории	Группы лечения			p
		СМТ	Здоровые	СМТ + Альбумин	
Пол	женщины	9 (60,0)	8 (66,7)	23 (65,7)	0,914
	мужчины	6 (40,0)	4 (33,3)	12 (34,3)	

Таблица 4 – Распределение по возрасту в зависимости от исследуемых групп

Показатель	Категории	Возраст			p
		М ± SD	95%-й ДИ	n	
Исследуемые группы	СМТ + Альбумин	53±11	49–57	35	0,116
	СМТ	52±13	45–59	15	
	Здоровые	44±15	35–54	12	

В группу «СМТ + Альбумин» вошли 18 пациентов с ЦП В класса (51,4%) и 17 пациентов с ЦП С класса (48,6%). В группу стандартной медикаментозной терапии (СМТ) вошли 7 (46,7%) и 8 (53,3%) пациентов, соответственно. В группу здоровых добровольцев – 12 участников. Статистически значимых различий между группами не выявлялось ($p = 1,000$) (используемый метод: Точный критерий Фишера).

Распределение баллов по шкале Чайлд – Пью было следующим: в группе «СМТ + Альбумин» медиана составила 9 баллов, в группе «СМТ» – 10 баллов, $p = 0,707$ (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни).

У подавляющего числа пациентов ведущим этиологическим фактором был алкогольный ЦП, $n = 31$ (62,0%), у 5 пациентов причиной заболевания печени служил вирусный гепатит (10%). Другие причины указаны на Рисунке 6.

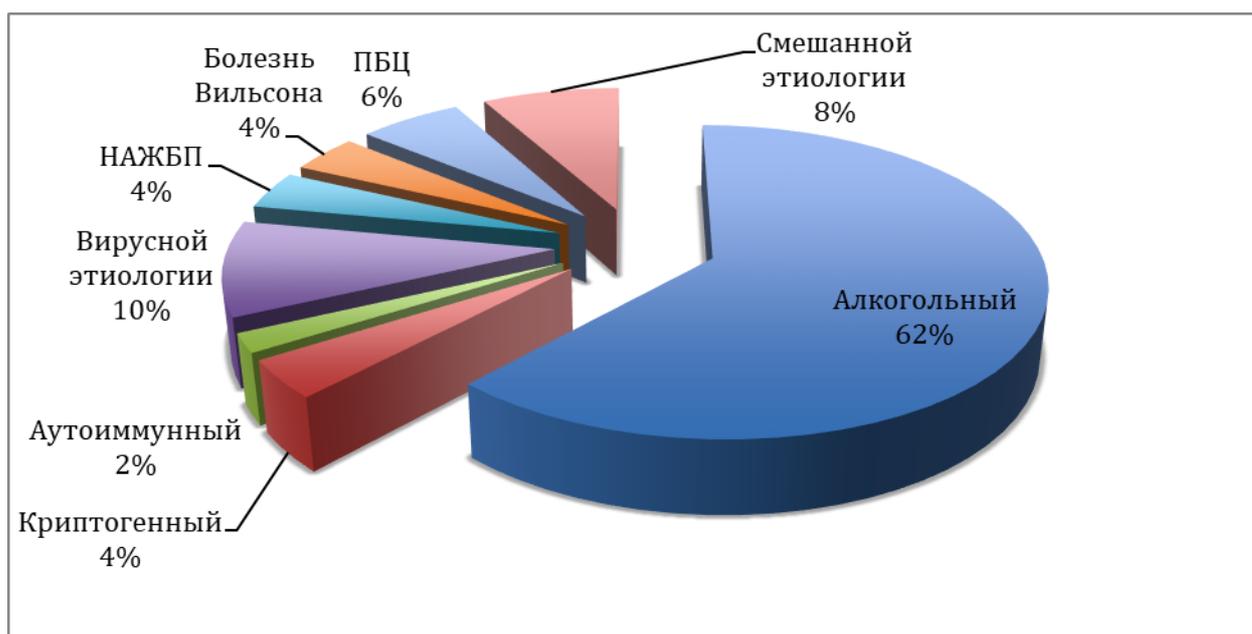


Рисунок 6 – Распределение пациентов, включенных в исследование, по этиологическому признаку ($n = 50$)

При сопоставлении данных этиологии ЦП в сформированных группах лечения статистически значимых различий не обнаружено, ($p = 0,816$) (используемый метод: *Хи-квадрат Пирсона*). При сравнении основных лабораторных показателей пациентов, включенных в исследование статистически значимых различий не выявлялось ($p > 0,05$). Подробные данные указаны в Таблице 5.

Таблица 5 – Основные лабораторные данные пациентов в зависимости от группы лечения

Показатели	Группы лечения	$M \pm SD / Me$	95%-й ДИ / $Q_1 - Q_3$	n	p
О. билирубин (мкмоль/л)	СМТ + Альбумин	35,90	24,15–88,85	35	0,310*
	СМТ	64,30	34,15–102,10	15	
Альбумин (г/л)	СМТ + Альбумин	31,84±6,11	29,74–33,93	35	0,539**
	СМТ	30,58±7,61	26,36–34,80	15	
МНО	СМТ + Альбумин	1,55	1,33–1,90	35	0,882*
	СМТ	1,55	1,34–1,81	15	
Креатинин (мкмоль/л)	СМТ + Альбумин	81	65–96	35	0,325*
	СМТ	77	56–91	15	
Натрий (ммоль/л)	СМТ + Альбумин	140	137–141	35	0,545*
	СМТ	139	136–140	15	
Тромбоциты (10^9 /л)	СМТ + Альбумин	111	76–151	35	0,575*
	СМТ	92	69–144	15	
Лейкоциты (10^9 /л)	СМТ + Альбумин	4,10	2,68–7,05	35	0,459*
	СМТ	5,10	3,45–6,72	15	
Общий белок (г/л)	СМТ + Альбумин	66,3±7,9	63,6–69,0	35	0,080**
	СМТ	70,4±6,6	66,8–74,1	15	
СОЭ (мм/ч)	СМТ + Альбумин	28	13–50	35	0,391*
	СМТ	32	20–54	15	
СРБ (мг/л)	СМТ + Альбумин	9,55	5,00–23,00	35	0,719*
	СМТ	12,00	5,00–22,00	15	

Примечание – Используемые методы: * – U-критерий Манна – Уитни; ** – t-критерий Стьюдента

Статистически значимых различий между исходными данными основных клинико-инструментальных показателей пациентов, разделенных на лечебные группы, не обнаружено, $p > 0,05$. Подробные данные размещены в Таблице 6.

Таблица 6 – Анализ основных клинико-инструментальных показателей в исследуемых группах

Показатели	Категории	Группы лечения		p
		СМ Т+ Альбумин	СМТ	
Асцит по классификации IAC	I ст.	12 (34,3)	6 (40,0)	0,708 *
	II ст.	16 (45,7)	5 (33,3)	
	III ст.	7 (20,0)	4 (26,7)	
Печеночная энцефалопатия	нет	16 (45,7)	3 (20,0)	0,117 **
	да	19 (54,3)	12 (80,0)	
Наличие желтухи	нет	14 (40,0)	5 (33,3)	0,757 **
	да	21 (60,0)	10 (66,7)	
Степень ВРВП и желудка	нет	2 (5,7)	3 (20,0)	0,097 *
	1 ст.	20 (57,1)	4 (26,7)	
	2 ст.	11 (31,4)	5 (33,3)	
	3 ст.	2 (5,7)	3 (20,0)	
<i>Примечание</i> – Используемые методы: * – Хи-квадрат Пирсона, ** – точный критерий Фишера				

Таким образом, сформированные группы были сопоставимы по демографическим, клиническим и лабораторно-инструментальным характеристикам.

3.1.2 Сравнительная характеристика структурно-функциональных свойств сывороточного альбумина, полученных методом ЭПР-спектроскопии, у пациентов с ЦП и у здоровых лиц

Для оценки структурных и функциональных показателей альбумина полученные данные пациентов (n = 50) сравнили с показателями здоровых добровольцев (n = 12). В ходе анализа было показано, что показатели нативности альбумина, связывающая, транспортная и детоксикационные свойства были достоверно и значимо снижены у пациентов, по сравнению с группой здоровых лиц (Таблица 7).

Таблица 7 – Сравнительный анализ показателей нативной конформации альбумина, связывающей, транспортной и детоксикационной способностей альбумина у пациентов с ЦП и здоровых добровольцев

Показатели	Категории	Группы			p
		M ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	
DR (нативность конформации альбумина)	Пациенты	-2,09	-2,44 – -1,04	50	< 0,001*
	Здоровые	3,51	2,41–3,83	12	
BE (связывающая эффективность)	Пациенты	37,26±16,55	32,56–41,97	50	< 0,001**
	Здоровые	111,67±21,73	97,87–125,48	12	
RTQ (транспортная активность)	Пациенты	38,40±16,41	33,74–43,07	50	< 0,001**
	Здоровые	79,98±12,37	72,12–87,83	12	
DTE (детоксикационная эффективность)	Пациенты	24,84	12,86–39,56	50	< 0,001*
	Здоровые	98,19	88,08–156,59	12	

*Примечание – * U-критерий Манна – Уитни, ** – t-критерий Стьюдента. Различия показателей статистически значимы (p < 0,05)*

Так, в группе больных ЦП медиана показателя DR была значительно ниже (-2,09), чем в группе здоровых лиц (3,51), $p < 0,001$. Среднее значение связывающей способности альбумина у декомпенсированных пациентов составляло 37,26%, и было почти в три раза выше, чем в группе здоровых добровольцев (111,67%), $p < 0,001$. Среднее значение транспортной способности альбумина у пациентов с ЦП составляло 38,40%, в группе здоровых лиц – 79,98% ($p < 0,001$). Также наблюдалось снижение детоксикационной способности альбумина у больных до 24,84%, в то время как медиана данного показателя у здоровых лиц находилась на уровне 98,19% ($p < 0,001$).

Таким образом, было показано достоверное и значимое снижение изучаемых структурно-функциональных параметров альбумина у пациентов с декомпенсированным циррозом печени. Для того, чтобы оценить, существует ли зависимость выявленных нарушений от тяжести заболевания, данные параметры были проанализированы в группах ЦП В и С классов по шкале Чайлд – Пью.

3.1.3 Изменения структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина, полученных методом ЭПР-спектроскопии в зависимости от тяжести ЦП

Пациентов с декомпенсированным ЦП разделили на две группы в зависимости от тяжести заболевания: 25 больных с циррозом С класса и 25 – В класса. У всех пациентов были проанализированы структурно-функциональные показатели альбумина, такие как нативность молекулы (DR), связывающая эффективность (BE), транспортная активность (RTQ) и детоксикационная эффективность (DTE). Было обнаружено, что структурная и функциональная неполноценность альбумина носила более выраженный характер в группе цирроза класса С (Таблица 8).

Таблица 8 – Сравнительный анализ показателей нативной конформации альбумина, связывающей, транспортной и детоксикационной активности в группах ЦП В и С классов

Показатели	Объекты исследования	$M \pm SD / Me$	95%-й ДИ / $Q_1 - Q_3$	n	p
DR (нативность конформации альбумина)	ЦП В	-0,88	-1,78 – -0,25	25	ЦП В
	ЦП С	-2,42	-2,57 – -2,28	25	ЦП С
BE (связывающая эффективность), %	ЦП В	45,00	38,69 – 58,13	25	ЦП В
	ЦП С	24,60	18,37 – 32,12	25	ЦП С
RTQ (транспортная эффективность), %	ЦП В	49,60±13,92	43,85 – 55,34	25	ЦП В
	ЦП С	27,21±9,76	23,18 – 31,24	25	ЦП С
DTE (детоксикационная эффективность), %	ЦП В	38,89	24,98 – 49,39	25	ЦП В
	ЦП С	12,32	9,51 – 23,12	25	ЦП С
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>					

Нативная конформация сывороточного альбумина (DR)

При анализе данных пациентов с ЦП, обращало на себя внимание снижение показателя нативного альбумина по мере прогрессирования заболевания. Так, наименьшие значения регистрировались в группе ЦП класса С. Медиана

показателя DR в группе ЦП В класса составляла минус 0,88 ($p < 0,001$), а в группе ЦП С класса – минус 2,42 ($p < 0,001$). Результаты анализа представлены в Таблице 8 и на Рисунке 7. Выявленные различия между исследованными группами в нативности конформации альбумина были статистически значимы ($p < 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела – Уоллиса).

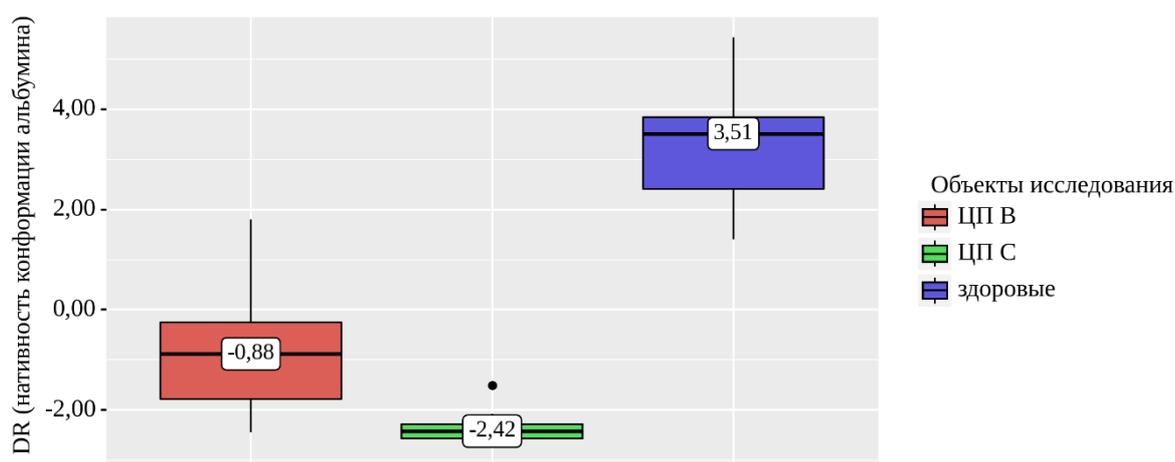


Рисунок 7 – Нативная конформация альбумина (DR) у пациентов с декомпенсированным циррозом печени и у здоровых добровольцев

Данный факт, как и высокая степень достоверности различий могут убедительно свидетельствовать в пользу концепции нарушения нормальной конформации и функциональной полноценности молекулы альбумина у пациентов с ЦП. Это положение также находит подтверждение в работе итальянских авторов [61].

Связывающая способность сывороточного альбумина (BE)

Связывающая эффективность альбумина также снижалась в соответствии с тяжестью ЦП. Минимальная связывающая способность альбумина была обнаружена в группе пациентов с ЦП класса С по шкале Чайлд – Пью (Me = 24,60%). В группе ЦП В класса связывающая способность альбумина была несколько выше (Me = 45%) по сравнению с группой пациентов с ЦП С класса ($p < 0,001$). Различия между группами были статистически значимы ($p = 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела – Уоллиса), Таблица 8, Рисунок 8.

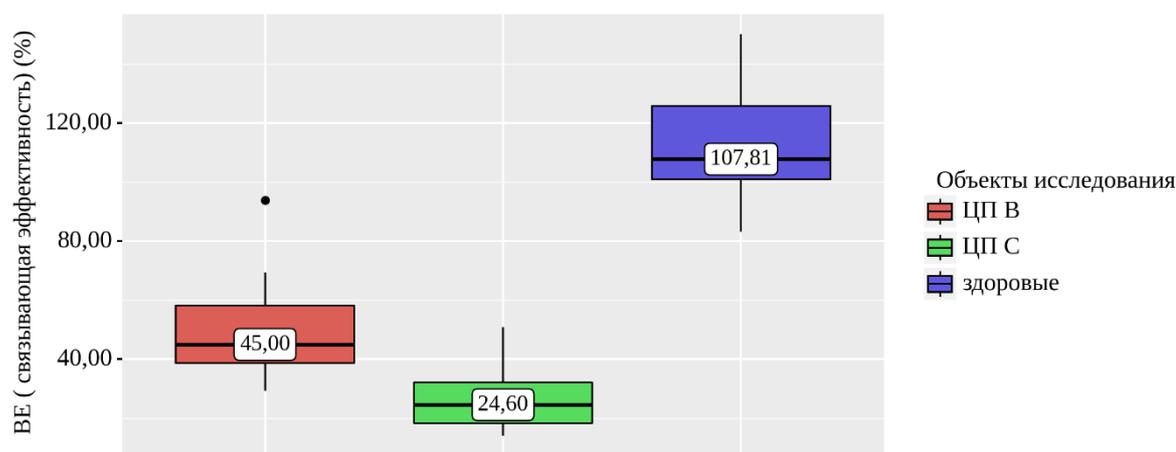


Рисунок 8 – Анализ связывающей эффективности альбумина (BE) у исследуемых групп

Данный результат полностью соотносится с находками относительно других неонкотических свойств альбумина и говорит о комплексном характере нарушения его свойств. По-видимому, указанный феномен может клинически проявляться снижением связывания альбумина с рядом лекарственных препаратов и билирубином.

Транспортная активность альбумина (RTQ)

Транспортная активность альбумина (RTQ) существенно зависела от тяжести основного заболевания. Наименьшая транспортная способность наблюдалась в группе ЦП С ($27,21 \pm 9,76\%$), у пациентов ЦП В класса транспортная активность находилась в пределах $49,60 \pm 13,92\%$. Различия в транспортной функции между группами также были статистически достоверными, $p < 0,001$ (используемый метод: *F*-критерий Фишера). Подробные данные представлены в Таблице 8 и на Рисунке 9.

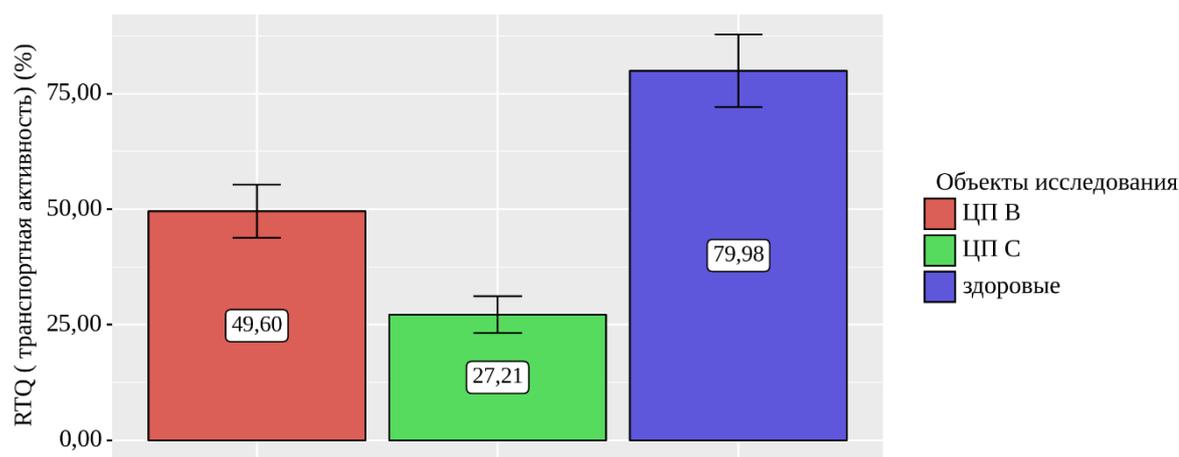


Рисунок 9 – Анализ транспортной активности альбумина (RTQ) у пациентов с декомпенсированным циррозом печени и у здоровых лиц

Детоксикационная эффективность альбумина (DTE)

Согласно полученным данным, способность альбумина к детоксикации у пациентов с ЦП С снижалась в три раза (12,32%), по сравнению с группой ЦП В (38,89%). Результаты анализа представлены в Таблице 8 и на Рисунке 10.

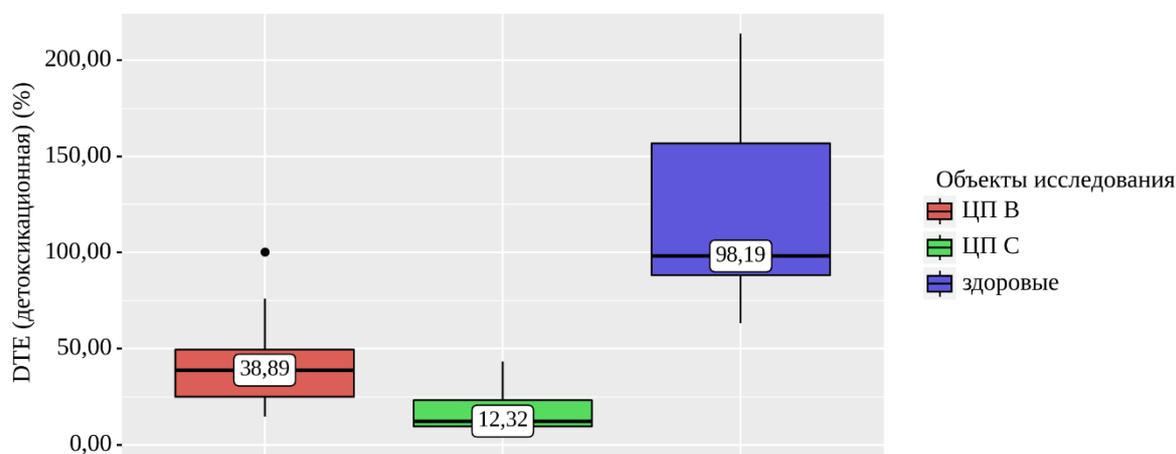


Рисунок 10 – Анализ детоксикационной активности альбумина (DTE) у пациентов с декомпенсированным циррозом печени и у здоровых лиц

Выявленные различия между группами, были существенными и достоверными ($p < 0,001$) (используемый метод: Критерий Краскела – Уоллиса). Данная динамика выраженного ухудшения показателя DTE четко отражает тяжесть процессов системной интоксикации у больных с декомпенсированным циррозом печени. Таким образом, у пациентов с декомпенсированным циррозом

все исследуемые структурно-функциональные показатели альбумина были не только снижены, но и зависели от тяжести ЦП [5, 32].

3.1.4 Характеристики показателя нативной конформации и функциональных свойств альбумина в группах СМТ и СМТ + Альбумин

Перед тем, как начать лечение, необходимо было убедиться, что группы были сопоставимы по структурно-функциональным показателям альбумина. В текущем разделе указаны структурно-функциональные показатели альбумина в сформированных лечебных группах: группе «СМТ» и в группе «СМТ + Альбумин». Их исходные показатели не различались ($p < 0,05$; *используемый метод: U-критерий Манна – Уитни*), Таблица 9.

Таблица 9 – Исходные показатели структурных и функциональных параметров альбумина в группах СМТ и СМТ + Альбумин

<i>Показатели</i>	<i>Группы лечения</i>	<i>Me</i>	<i>Q₁ – Q₃</i>	<i>n</i>	<i>p</i>
DR (нативность конформации альбумина)	СМТ + Альбумин	-2,08	-2,43 – -0,81	35	0,597
	СМТ	-2,13	-2,51 – -1,69	15	
BE (связывающая эффективность), %	СМТ + Альбумин	35,44	28,01 – 45,10	35	0,478
	СМТ	34,12	19,66 – 46,25	15	
RTQ (транспортная активность), %	СМТ + Альбумин	36,36	29,09 – 46,74	35	0,440
	СМТ	36,07	21,26 – 47,17	15	
DTE (детоксикационная эффективность), %	СМТ + Альбумин	24,98	18,52 – 39,92	35	0,335
	СМТ	24,71	10,12 – 37,89	15	

3.2. Зависимость тяжести нарушений структуры и функций альбумина от тяжести ЦП

3.2.1 Связь изменений нативного альбумина, его транспортной, связывающей, детоксикационной активности с тяжестью ЦП по шкале Чайлд – Пью

Для оценки взаимосвязи выраженности структурно-функциональных нарушений альбумина с тяжестью ЦП, был выполнен корреляционный анализ зависимости суммы баллов по шкале Чайлд – Пью, от уровня альбумина и его исследуемых показателей. В ходе данного анализа была выявлена высокой тесноты обратная связь показателей DR, BE, RTQ, DTE с баллами по шкале Чайлд – Пью ($p < 0,001$), Таблица 10. При оценке связи уровня альбумина и баллов по шкале Чайлд – Пью была установлена умеренной тесноты обратная связь ($p < 0,001$). Ниже представлен график регрессионной функции, характеризующей зависимость показателя нативности альбумина от баллов по шкале Чайлд – Пью (Рисунок 11).

Таблица 10 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи уровня альбумина, показателей нативной конформации, связывающей, транспортной и детоксикационной функций с баллами по шкале Чайлд – Пью

Показатели	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Баллы Child-Pugh – Альбумин (г/л)	-0,550	Умеренная	$< 0,001^*$
Баллы Child-Pugh – DR (нативность конформации альбумина)	-0,809	Высокая	$< 0,001^*$
Баллы Child-Pugh – BE (связывающая эффективность)	-0,759	Высокая	$< 0,001^*$
Баллы Child-Pugh – RTQ (транспортная эффективность)	-0,761	Высокая	$< 0,001^*$

Баллы Child-Pugh – DTE (детоксикационная эффективность)	-0,730	Высокая	< 0,001*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>			

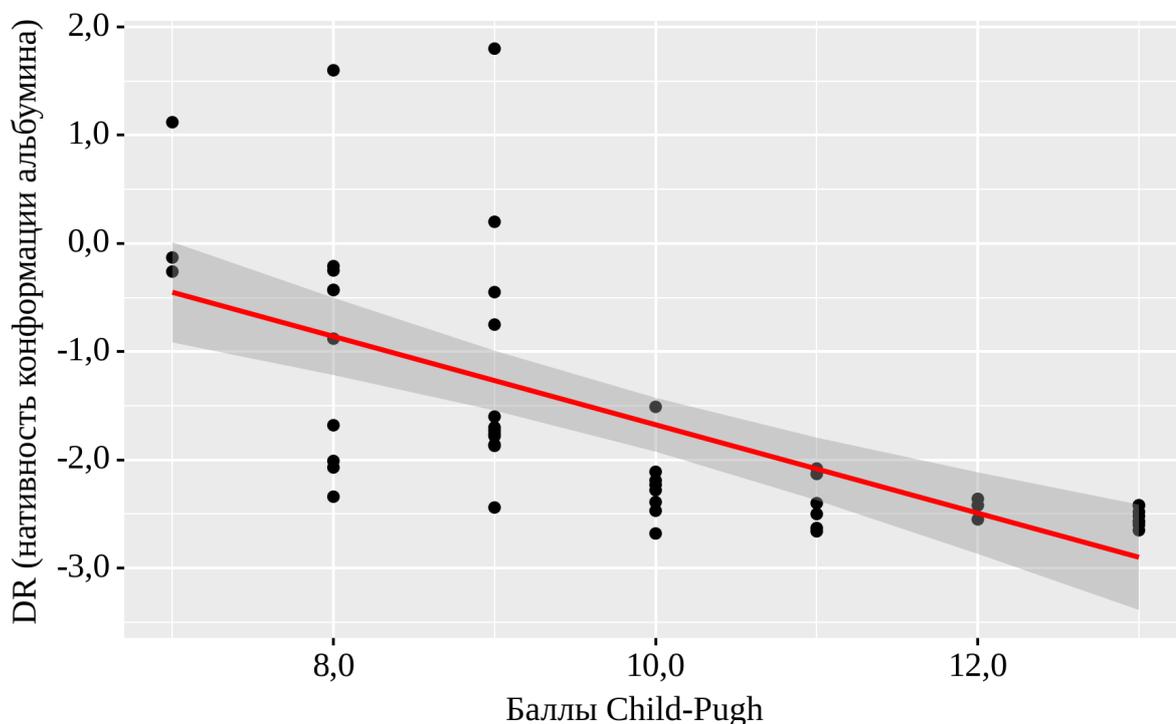


Рисунок 11 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя DR от суммы баллов по шкале Чайлд –Пью

Наблюдаемая зависимость показателя DR от показателя баллов по шкале Child – Pugh описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{DR \text{ (нативность конформации альбумина)}} = -0,408 \times X_{\text{Баллы Child-Pugh}} + 2,406. \quad (1)$$

При увеличении баллов по шкале Child –Pugh на 1 балл, следует ожидать уменьшение показателя нативной конформации альбумина на 0,408. Полученная модель объясняет 43,5% наблюдаемой дисперсии показателя DR (Рисунок 12).

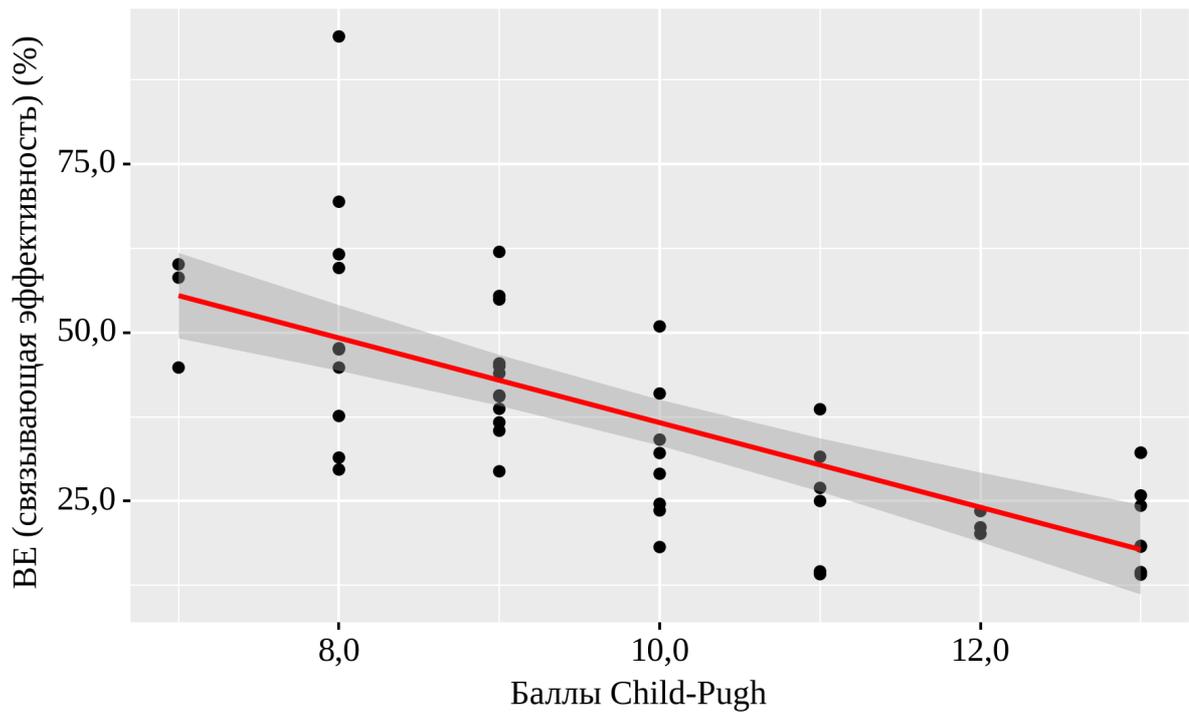


Рисунок 12 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя «связывающая эффективность альбумина» от баллов по шкале Child –Pugh

При оценке связи показателя VE и баллов по Child – Pugh была установлена высокой тесноты обратная связь (Рисунок 12).

Данная зависимость описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{VE (связывающая эффективность)}} = -6,275 \times X_{\text{Баллы Child-Pugh}} + 99,388. \quad (2)$$

При увеличении показателя суммы баллов по Чайлд – Пью на 1, следует ожидать снижение связывающая способности альбумина на 6,275%. Полученная модель объясняет 49,4% наблюдаемой дисперсии показателя VE.

Наблюдаемая высокой тесноты обратная зависимость транспортной эффективности альбумина от показателя баллов по Child – Pugh, описывается следующим уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{RTQ (транспортная)}} = -6,274 \times X_{\text{Баллы Child-Pugh}} + 100,517. \quad (3)$$

При увеличении суммы баллов на 1 следует ожидать уменьшение показателя RTQ на 6,274%. Полученная модель объясняет 50,2% наблюдаемой дисперсии показателя транспортной эффективности альбумина (Рисунок 13).

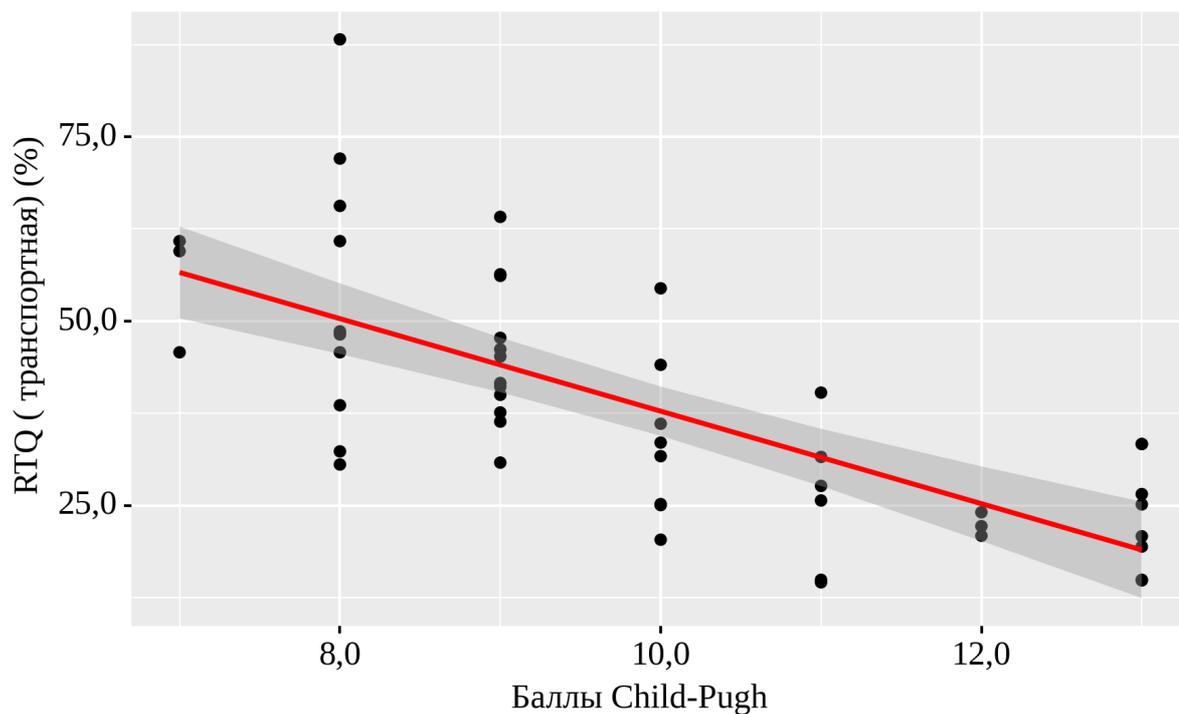


Рисунок 13 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя RTQ от баллов по шкале Child –Pugh

При оценке связи детоксикационной активности и баллов по Child –Pugh была ожидаемо установлена высокой тесноты обратная связь.

Данная зависимость описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{DTE (детоксикационная активность)}} = -7,322 \times X_{\text{Баллы Child-Pugh}} + 102,14. \quad (4)$$

При увеличении баллов Child – Pugh на 1 следует ожидать уменьшение показателя детоксикационной активности на 7,322%.

Полученная модель объясняет 42,9% наблюдаемой дисперсии показателя DTE (Рисунок 14).

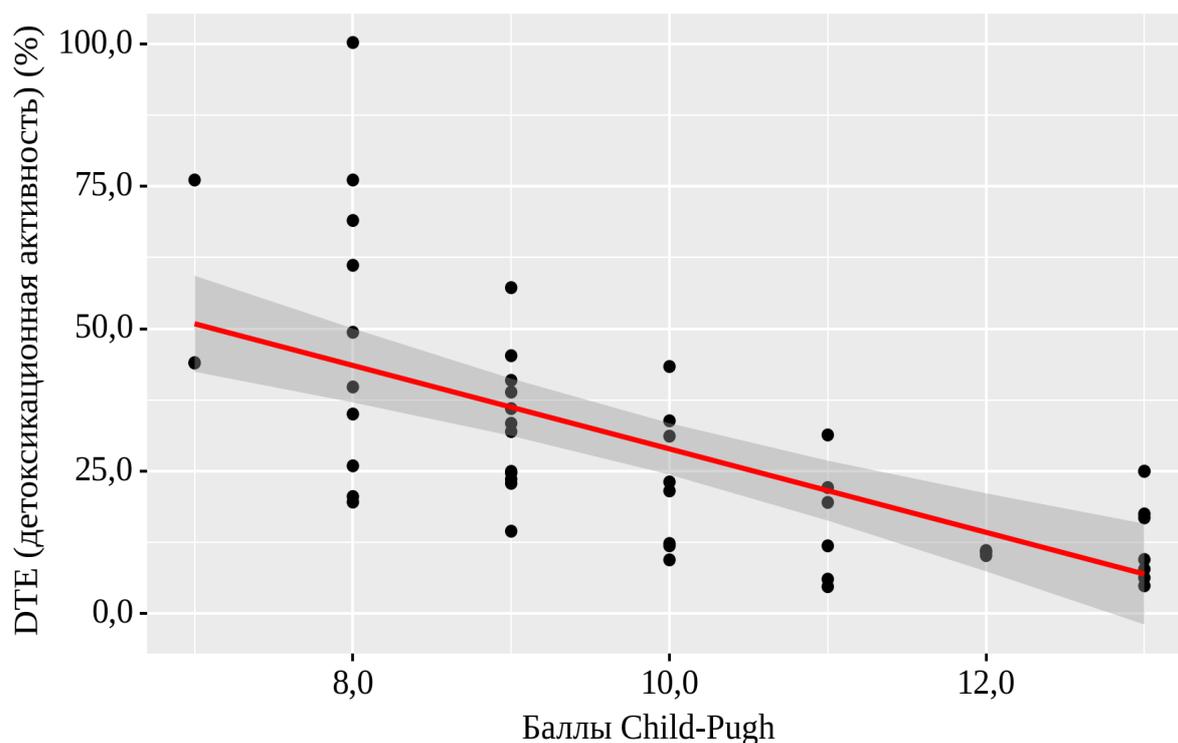


Рисунок 14 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя DTE (детоксикационной активности альбумина) от суммы баллов по Child –Pugh

Основные корреляционные взаимосвязи представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Сводная таблица корреляций альбумина, его структурно-функциональных свойств с лабораторными данными и баллами по шкале Чайлд – Пью

	<i>DR</i>	<i>BE (%)</i>	<i>RTQ (%)</i>	<i>DTE (%)</i>	<i>Альбумин (г/л)</i>
Билирубин (мг/дл)	-0,34	-0,36	-0,37	-0,34	-0,17
Баллы по шкале Чайлд – Пью	-0,80	-0,75	-0,76	-0,73	-0,55
СОЭ (мм/ч)	-0,06	-0,01	-0,01	-0,06	-0,21
СРБ (мг/л)	-0,16	-0,12	-0,14	-0,13	-0,06
МНО	-0,49	-0,40	-0,40	-0,39	-0,18

В ходе интерпретации полученных данных обнаружены следующие корреляционные взаимосвязи:

1) **сильная корреляция**: структура и функции альбумина - баллы по Чайлд – Пью ($p < 0,001$);

- 2) **умеренная** : структура и функции альбумина – МНО ($p < 0,001$);
- 3) **слабая**: структура и функции альбумина – билирубин ($p < 0,001$);
- 4) **очень слабая**: структура и функции альбумина – СРБ ($p < 0,001$);
- 5) **нет корреляции**: структура и функции альбумина – СОЭ ($p < 0,001$).

Таким образом, в данной работе была показана высокой тесноты обратная связь структурно-функциональных показателей альбумина с баллами по шкале Чайлд –Пью. Данный факт демонстрирует, что степень выраженности структурных нарушений альбумина зависит от тяжести заболевания и связана с прогрессированием ЦП. При этом уровень альбумина, хотя и коррелирует с тяжестью цирроза, но менее выражено. Умеренная связь обратной силы наблюдалась с МНО, слабая – с билирубином.

3.2.2 Связь изменений уровня сывороточного альбумина, его нативной конформации, транспортной, связывающей, детоксикационной активности с тяжестью асцита, наличием печеночной энцефалопатии, желтухи и варикозного расширения вен пищевода

В данной работе были проанализированы значения сывороточного альбумина в зависимости от степени выраженности асцита, наличия ПЭ, желтухи и степени ВРВП. Исходя из полученных данных при анализе корреляции между уровнем сывороточного альбумина и наличием ВРВП была установлена статистически значимая взаимосвязь ($p = 0,048$) (*используемый метод: F-критерий Фишера*). Так, при отсутствии ВРВП среднее значения уровня альбумина было $38,56 \pm 5,43$, в то время как более низкие значения альбумина были ассоциированы с наличием ВРВП. При сопоставлении уровня альбумина и тяжести асцита по классификации IAC, наличия ПЭ, желтухи значимых взаимосвязей не выявлено ($p = 0,248^1$; $p = 0,356^2$; $p = 0,973^2$, соответственно)

(используемые методы: *F*-критерий Фишера¹; *t*-критерий Стьюдента²), Таблица 12.

Таблица 12 – Связь уровня альбумина с клинико-инструментальными показателями

Показатели	Категории	Альбумин (г/л)			p
		M ± SD	95%-й ДИ	n	
Асцит по классификации IAC	I ст.	33,18±6,73	29,84–36,53	18	0,248
	II ст.	31,27±5,76	28,65–33,89	21	
	III ст.	29,00±7,36	24,05–33,95	11	
Печеночная энцефалопатия	нет	32,56±5,89	29,73–35,40	19	0,356
	да	30,78±6,92	28,25–33,32	31	
Наличие желтухи	нет	31,50±7,78	27,75–35,25	19	0,973
	да	31,44±5,79	29,31–33,56	31	
Степень ВРВП	нет	38,56±5,43	31,82–45,30	5	0,048* P_{2 ст. – нет} = 0,029
	1-я ст.	31,60±7,04	28,62–34,57	24	
	2-я ст.	29,38±5,18	26,61–32,14	16	
	3-я ст.	30,38±5,20	23,93–36,83	5	
<i>Примечание</i> – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)					

Подобная связь гипоальбуминемии и ВРВП и желудка, по всей видимости, обусловлена транслокацией альбумина в интерстициальное пространство на фоне портальной гипертензии.

Также была проанализирована зависимость величины нативной конформации (DR) от клинико-инструментальных проявлений заболевания. Согласно представленной в Таблице 12, величина DR (нативность конформации альбумина) уменьшалась по мере усугубления выраженности асцита. Так, при асците I степени медиана DR была на уровне минус 1,69, при асците II степени – минус 2,28, наиболее низкое значение определялось при асците III степени – минус 2,42 (p = 0,016; *Критерий Краскела – Уоллиса*).

Наличие ПЭ также было ассоциировано с более низкими значениями DR. Медиана показателя при ПЭ составила минус 2,36, по сравнению с пациентами без ПЭ (медиана составила минус 1,68), p = 0,002, (*используемый метод: U-критерий Манна – Уитни*).

Статистически значимой взаимосвязи изучаемых параметров от наличия желтухи и ВРВП установить не удалось ($p = 0,055$; $p = 0,058$, соответственно) (используемые методы: *U*-критерий Манна – Уитни, Критерий Краскела – Уоллиса), Таблица 13.

Таблица 13 – Связь нативной конформации (DR) альбумина с клинико-лабораторными показателями

Показатели	Категории	DR (нативность конформации альбумина)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Асцит по классификации IAC	I ст.	-1,69	-2,02 – -0,30	18	0,016* $p_{\text{II ст.} - \text{I ст.}} =$ 0,040 $p_{\text{III ст.} - \text{I ст.}} =$ 0,040
	II ст.	-2,28	-2,44 – -1,87	21	
	III ст.	-2,42	-2,60 – -1,90	11	
Печеночная энцефалопатия	нет	-1,68	-2,04 – -0,23	19	0,002*
	да	-2,36	-2,51 – -1,83	31	
Наличие желтухи	нет	-1,78	-2,33 – -0,34	19	0,055
	да	-2,23	-2,51 – -1,71	31	
Степень ВРВП	нет	-0,21	-1,70 – 1,12	5	0,058
	1-я ст.	-2,31	-2,45 – -1,75	24	
	2-я ст.	-1,94	-2,54 – -1,35	16	
	3-я ст.	-2,13	-2,19 – -1,60	5	
<i>Примечание</i> – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)					

В ходе дальнейшего изучения обнаружены статистически значимые изменения показателя «ВЕ» в зависимости от наличия ПЭ и желтушного синдрома, $p = 0,010$, $p = 0,016$, соответственно) (используемые методы: *U*-критерий Манна – Уитни, *t*-критерий Стьюдента). ПЭ и наличие желтухи были ассоциированы с более низкими значениями связывающей способности альбумина. При сопоставлении значений связывающей эффективности от степени асцита и степени ВРВП не удалось выявить статистически значимых различий ($p = 0,097$, $p = 0,306$ соответственно) (используемый метод: Критерий Краскела – Уоллиса), Таблица 14.

Таблица 14 – Связывающая способность альбумина (BE) и данные клинико-инструментального обследования

Показатели	Категории	BE (связывающая эффективность) (%)			p
		M ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	
Асцит по классификации IAC	I ст.	42,73	32,76–53,04	18	0,097
	II ст.	32,12	25,02–38,62	21	
	III ст.	24,32	18,21–42,45	11	
Печеночная энцефалопатия	нет	40,66	37,14–51,19	19	0,010*
	да	29,68	22,32–42,45	31	
Наличие желтухи	нет	44,36±17,80	35,78–52,94	19	0,016*
	да	32,91±14,36	27,65–38,18	31	
Степень ВРВП	нет	45,00	40,66–58,13	5	0,306
	1-я ст.	31,85	24,14–41,91	24	
	2-я ст.	36,53	23,02–48,47	16	
	3-я ст.	25,02	24,60–38,69	5	

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

Полученные результаты указывают на ассоциацию клинических проявлений цирроза, обусловленных интоксикацией и гипербилирубинемией со снижением связывающей функции молекулы альбумина. Сходная картина наблюдалась при сопоставлении данных транспортной и детоксикационной активности альбумина. Транспортные показатели альбумина имели более низкие значения при наличии ПЭ и желтухи ($p = 0,009$; $p = 0,014$ соответственно), (*используемые методы: U-критерий Манна – Уитни, t-критерий Стьюдента*).

Детоксикационная способность также была ниже у пациентов при наличии ПЭ и желтухи ($p = 0,005$; $p = 0,012$, соответственно) (*используемый метод: U-критерий Манна – Уитни*). При сравнении других показателей статистически значимых взаимосвязей выявлено не было.

В Таблице 15 и Таблице 16 представлены данные транспортной и детоксикационной функций альбумина.

Таблица 15 – Связь транспортной активности (RTQ) альбумина с клинико-инструментальными показателями

Показатели	Категории	RTQ (транспортная) (%)			p
		M ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	

Асцит по классификации IAC	I ст.	43,67	33,64–54,14	18	0,093
	II ст.	33,32	25,66–40,29	21	
	III ст.	25,13	19,88–44,62	11	
Печеночная энцефалопатия	нет	41,59	38,09–52,16	19	0,009*
	да	31,57	23,12–44,62	31	
Наличие желтухи	нет	45,55±16,78	37,47–53,64	19	0,014*
	да	34,02±14,80	28,59–39,45	31	
Степень ВРВП	нет	46,17	41,11–59,48	5	0,308
	1-я ст.	32,82	25,16–44,48	24	
	2-я ст.	37,47	23,62–50,06	16	
	3-я ст.	25,66	25,03–39,99	5	
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>					

Таким образом, в работе была показана связь нарушений функциональной полноценности альбумина со значимыми осложнениями цирроза печени. В частности, показатель DR, отражающий выраженность конформационных нарушений альбумина, уменьшался по мере прогрессирования асцита.

Наличие ПЭ было ассоциировано с более низкими значениями DR, чем ее отсутствие. Более низкие значения связывающей способности альбумина (BE), транспортной (RTQ) и детоксикационной способности (DTE) были ассоциированы с наличием ПЭ и желтушного синдрома.

Также была выявлена связь гипоальбуминемии и ВРВП.

Таблица 16 – Детоксикационная активность альбумина в зависимости от клинико-инструментальных параметров

Показатели	Категории	DTE (детоксикационная активность) (%)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Асцит по классификации IAC	I ст.	33,98	21,20–43,23	18	0,214***
	II ст.	22,88	12,32–31,37	21	
	III ст.	16,82	9,30–33,63	11	
Печеночная энцефалопатия	нет	31,96	24,84–47,34	19	0,005**
	да	20,56	10,94–33,63	31	
Наличие желтухи	нет	33,41	23,36–43,69	19	0,012**
	да	19,59	10,49–33,98	31	
Степень ВРВП	нет	36,00	24,71–43,99	5	0,654***
	1-я ст.	22,87	15,70–35,11	24	
	2-я ст.	25,48	14,71–40,08	16	

	3-я ст.	11,91	10,79–24,98	5	
<i>Примечание</i> – Различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$); используемые методы: ** – U-критерий Манна – Уитни, *** – критерий Краскела – Уоллиса					

3.2.3 Анализ распространенности нарушения нативной конформации, снижения связывающей, транспортной и детоксикационной функций при нормальном уровне сывороточного альбумина и гипоальбуминемии

С учетом выявленных существенных изменений функциональных свойств альбумина у пациентов с ЦП, было принято решение также проанализировать, насколько эти сдвиги являются следствием гипоальбуминемии, или же они связаны с основным заболеванием. Для этой цели соотнесена распространенность обоих этих явлений в исследуемых группах и были получены следующие результаты.

Среди всех пациентов с декомпенсированным ЦП у 26 (52%) больных уровень альбумина находился в пределах нормальных значений: у 18 (72%) пациентов класса В и у 8 (32%) класса С (Таблица 17, Рисунок 15).

Таким образом, было выяснено, что среди всех пациентов с циррозом печени и асцитом у 52% ($n = 26$) уровень альбумина находился в пределах нормальных значений.

Таблица 17 – Уровень альбумина в сыворотке крови у пациентов В/С классов по Чайлд – Пью

Показатель	Категории	Объекты исследования		p
		ЦП В	ЦП С	
Уровень сывороточного альбумина	гипоальбуминемия	7 (28,0%)	17 (68,0%)	0,005*
	норма	18 (72,0%)	8 (32,0%)	
<i>Примечание</i> – Различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$); используемый метод: Хи-квадрат Пирсона				

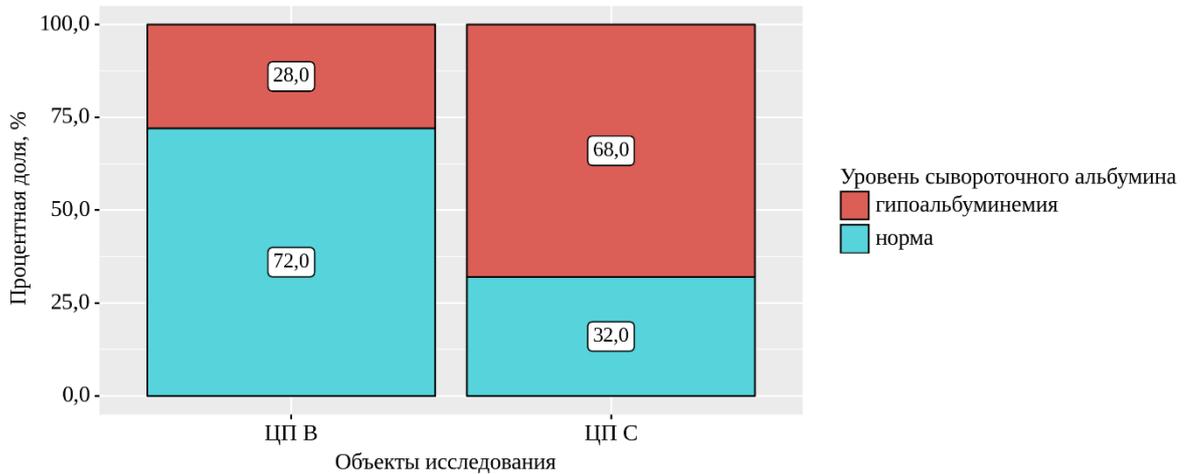


Рисунок 15 – Уровень сывороточного альбумина у пациентов с декомпенсированным циррозом печени

Учитывая данный факт, была проанализирована связь изменений конформации альбумина и его концентрации в крови. Обнаружено, что у 100% пациентов с декомпенсированным ЦП, структурные показатели альбумина принимали патологическую форму, независимо от его сывороточной концентрации (Рисунок 16).

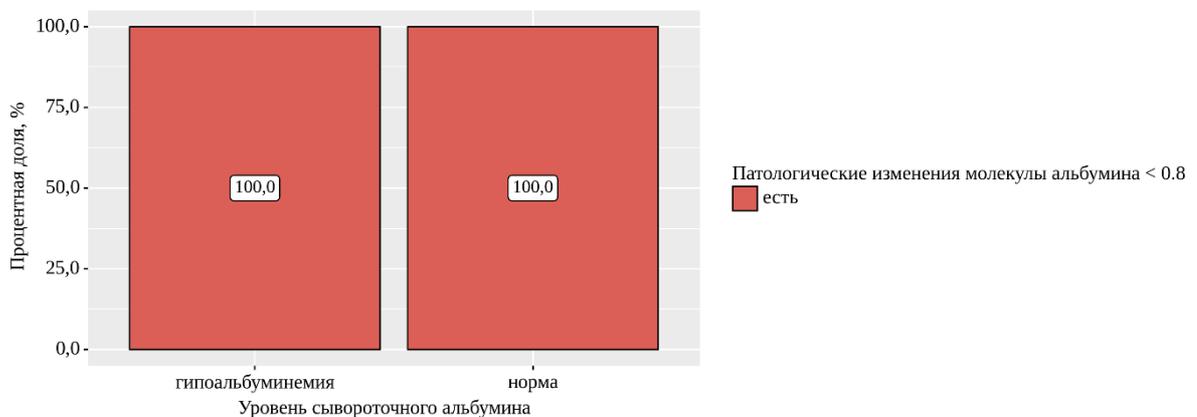


Рисунок 16 – Патологические изменения молекулы альбумина в зависимости от уровня сывороточного альбумина в крови (DR < 0,8)

Снижение связывающей активности альбумина наблюдалось в 83,3% случаев с нормальным количественным содержанием, и в 95,8% случаев при гипоальбуминемии.

Статистически значимых различий в зависимости от уровня альбумина выявлено не было, $p = 0,351$, (используемый метод: Точный критерий Фишера), Рисунок 17.

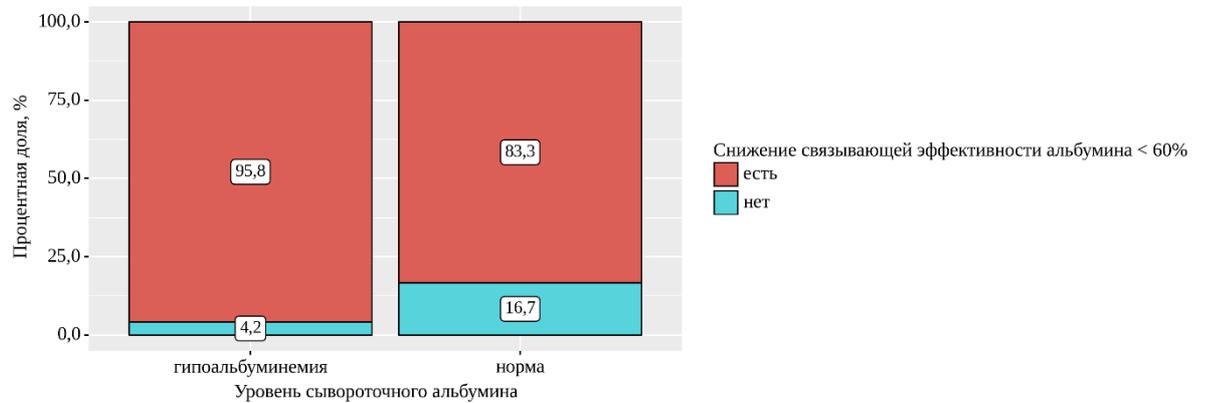


Рисунок 17 – Снижение связывающей эффективности альбумина в зависимости от уровня сывороточного альбумина ($BE < 60\%$)

Снижение транспортной активности альбумина также наблюдалось в большом числе случаев: в 75,0% случаев с нормальным уровнем альбумина, и в 87,5% случаев при гипоальбуминемии. Статистически значимых различий в зависимости от уровня альбумина выявлено не было, $p = 0,467$, (используемый метод: Точный критерий Фишера), Рисунок 18.

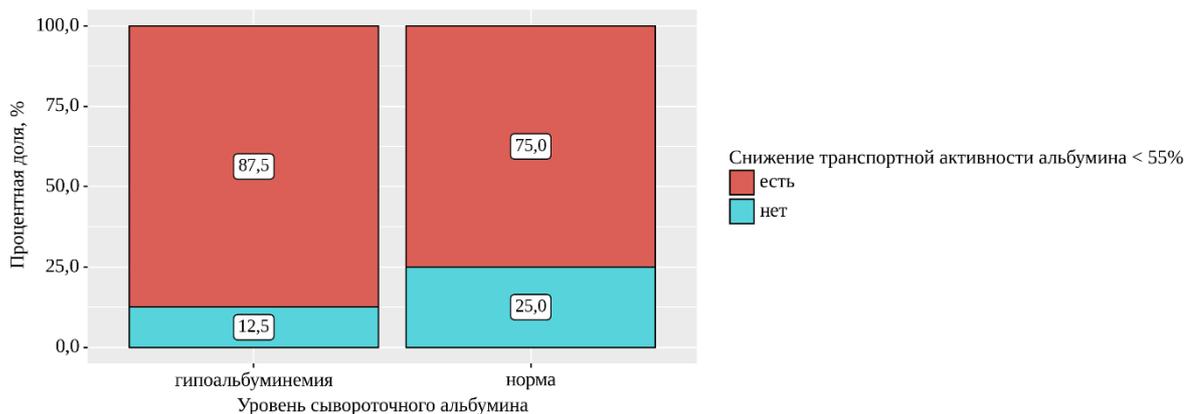


Рисунок 18 – Снижение транспортной активности альбумина в зависимости от уровня сывороточного альбумина ($RTQ < 55\%$)

Детоксикационная активность альбумина существенно падала в 66,7% случаев с нормальным уровнем альбумина, и в 83,3% случаев при снижении уровня альбумина в сыворотке крови. Статистически значимых различий в зависимости от уровня альбумина выявлено не было, $p = 0,327$, (используемый метод: точный критерий Фишера), Рисунок 19.

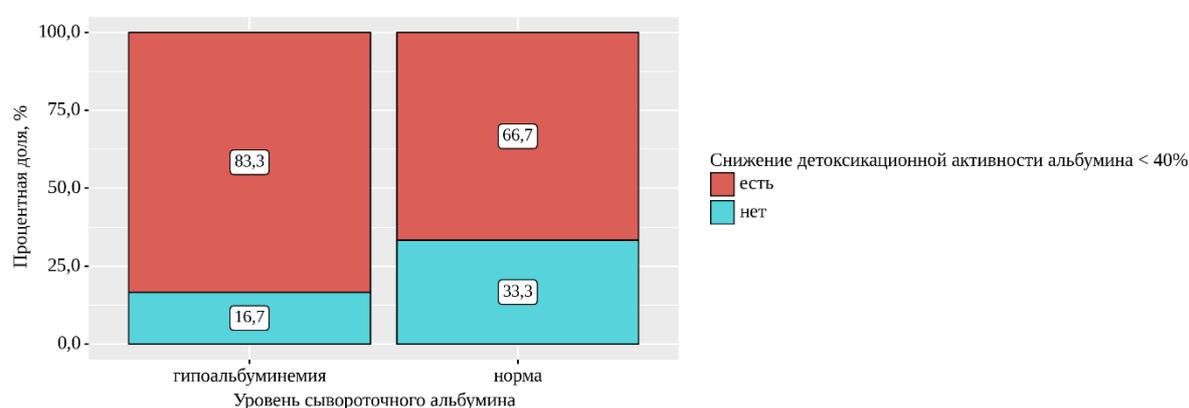


Рисунок 19 – Снижение детоксикационной активности альбумина в зависимости от уровня сывороточного альбумина ($DTE < 40\%$)

Таким образом, было показано, что патологические изменения альбумина не связаны с явлением гипоальбуминемии. Полученные данные позволяют по-новому взглянуть на патогенез ЦП и его осложнений.

3.3 Динамика показателей за период 3-месячного наблюдения на фоне лечения

3.3.1 Оценка клинических и лабораторно-инструментальных показателей пациентов с декомпенсированным ЦП в динамике

Из исходно включенных 50 пациентов, к концу 3 месяца наблюдения выбыло 3 участника исследования. В группе «СМТ + Альбумин»: летальный

исход ($n = 1$), трансплантация печени ($n = 1$). В группе «СМТ»: 1 летальный исход. В дальнейшем анализе участвовали 47 пациентов.

В процессе интерпретации динамики основных лабораторных показателей обращает на себя внимание достоверное и статистически значимое увеличение уровня натрия с 140 до 141 ммоль/л ($p = 0,027$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). Также, на фоне заместительной терапии, было отмечено существенное увеличение среднего уровня альбумина в группе «СМТ + Альбумин» с 31,75 до 40,06 г/л ($p < 0,001$) (используемый метод: парный t-критерий Стьюдента), различия между группами были значимы ($p < 0,001$) (используемый метод: t-критерий Стьюдента). В обеих группах отмечалось снижение скорости оседания эритроцитов: в группе «СМТ + Альбумин» медиана СОЭ снизилась с 32 до 19 мм/ч ($p = 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в группе «СМТ» – с 32 до 28 мм/ч ($p = 0,019$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). В ходе анализа СРБ в группе «СМТ + Альбумин» отмечалось достоверное и значимое снижение с 7 до 2,24 мг/л ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). Различия между группами по данному показателю на фоне лечения достигли статистически значимого порога ($p = 0,005$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни). Медиана показателя МНО в группе «СМТ + Альбумин» снижалась с 1,54 до 1,49 ($p = 0,004$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в то время как в группе «СМТ» оставалась без значительных изменений (Таблица 18).

Была рассчитана доля пациентов, перешедших из стадии декомпенсированного ЦП в стадию компенсации. В группе заместительной терапии данный показатель на 3-м месяце наблюдения составил 39,4% ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в то время как в группе «СМТ» не было зарегистрировано ни одного случая компенсации. Согласно полученным данным, на фоне лечения между группами выявлены существенные различия ($p = 0,003$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Таким образом, заместительная терапия альбумином способствовала не только закономерному повышению уровня альбумина в крови, но и уменьшению выраженности воспалительного синдрома, что отразилось в снижении

показателей СОЭ и СРБ [4, 53]. Данный феномен нашел объяснение в ряде фундаментальных работ, описывающих снижение реактивности иммунных клеток под влиянием альбумина [9, 95].

Поддержанию нормального уровня натрия в крови на фоне терапии альбумином, по-видимому, способствовал эффект Гиббса – Доннана – способность отрицательно заряженного альбумина притягивать положительно заряженные ионы натрия, возвращая их в сосудистое русло [77, 97].

Таблица 18 – Оценка основных лабораторных показателей в динамике

Группы лечения	Основные лабораторные показатели в динамике				p
	М ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	М ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	
	Лейкоциты (до)		Лейкоциты (после)		
СМТ + Альбумин	4,10	2,40–5,90	4,14	3,69–5,12	0,674
СМТ	4,63	3,38–6,36	3,87	3,23–4,62	0,153
	Тромбоциты (до)		Тромбоциты (после)		
СМТ + Альбумин	111	75–148	105	78–126	0,166
СМТ	86	68–144	97	60–110	0,808
	Альбумин (до)		Альбумин (после)		
СМТ + Альбумин	31,75±6,25	29,53–33,96	40,06±6,63	37,71–42,41	< 0,001*
СМТ	30,46±7,88	25,90–35,01	29,62±6,95	25,60–33,63	0,557
	МНО (до)		МНО (после)		
СМТ + Альбумин	1,54	1,33–1,87	1,49	1,30–1,56	0,004*
СМТ	1,51	1,29–1,88	1,52	1,24–1,78	0,326
	Натрий (до)		Натрий (после)		
СМТ + Альбумин	140	137–141	141	140–142	0,027*
СМТ	139	137–141	139	136–141	0,944
	О. билирубин (до)		О. билирубин (после)		
СМТ + Альбумин	35,60	22,90–68,70	37,10	23,50–46,85	0,805
СМТ	53,40	32,77–82,88	41,65	23,15–78,58	0,626
	СОЭ (до)		СОЭ (после)		
СМТ + Альбумин	32	13 – 55	19	16–22	0,001*
СМТ	32	20 – 54	28	12–32	0,019*
	СРБ (до)		СРБ (после)		

СМТ + Альбумин	7,00	5,00–22,00	2,24	2,00–3,00	< 0,001*
СМТ	12,00	3,00–15,00	7,33	4,00–14,50	0,910
	Креатинин (до)		Креатинин (после)		
СМТ + Альбумин	80	65–96	77	71–91	0,852
СМТ	77	58–94	72	65–85	0,903

Подобные значимые для патогенеза ЦП и его осложнений сдвиги закономерно привели к возрастанию числа пациентов, перешедших из декомпенсированной в компенсированную стадию заболевания (Таблицы 19, 20; Рисунок 20).

Таблица 19 – Число пациентов с компенсированным ЦП через 3 месяца наблюдения

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Класс по Child – Pugh (до)		Класс по Child – Pugh (после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ	ЦП А	0	0,0	0	0,0	0,564
	ЦП В	7	50,0	6	42,9	
	ЦП С	7	50,0	8	57,1	
СМТ + Альбумин	ЦП А	0	0,0	13	39,4	< 0,001*
	ЦП В	18	54,5	15	45,5	
	ЦП С	15	45,5	5	15,2	
p		1,000		0,003*		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>						

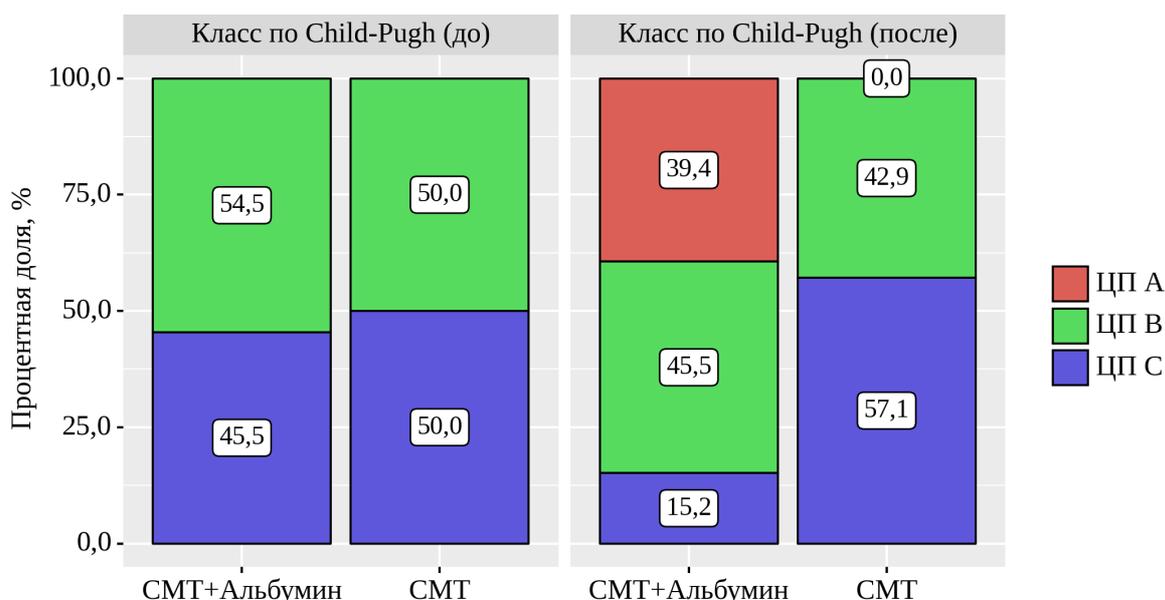


Рисунок 20 – Число пациентов с компенсированным ЦП через 3 месяца лечения

Была выполнена оценка динамики баллов по шкале Чайлд – Пью в исследуемых группах. Через 3 месяца лечения в группе «СМТ + Альбумин» отмечалось существенное и достоверное снижение медианы с 9 до 7 баллов по шкале Чайлд – Пью ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в то время как в группе «СМТ» медиана не менялась ($p = 0,832$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). Таким образом, различия между группами на фоне разных терапевтических подходов достигли статистически значимых различий ($p < 0,001$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни).

Таблица 20 – Динамика баллов по шкале Чайлд – Пью в группах лечения

Группы лечения	Этапы наблюдения				p
	Баллы Child –Pugh (до)		Баллы Child –Pugh (после)		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
СМТ + Альбумин	9 (n = 33)	8–11	7 (n = 33)	6–9	< 0,001*
СМТ	10 (n = 14)	8–11	10 (n = 14)	8–11	0,832
p	0,804		< 0,001*		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>					

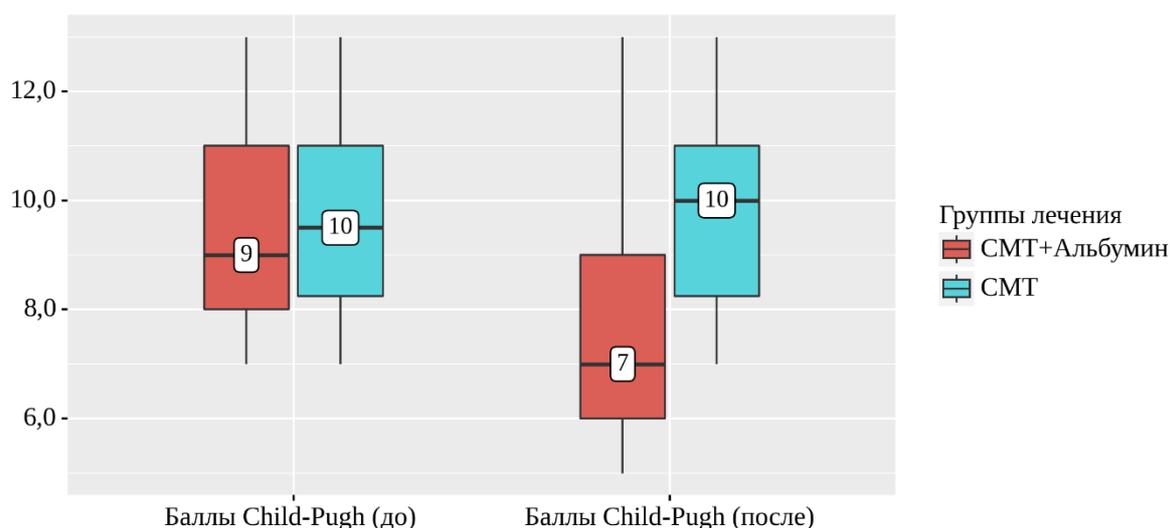


Рисунок 21 – Динамика баллов по шкале Чайлд – Пью в группах лечения

Для оценки клинических показателей была проанализирована динамика асцитического синдрома на фоне терапии. Проведенный анализ показал, что в группе «СМТ + Альбумин» полной регрессии асцита (и без его последующего рецидива в период наблюдения с 3-го по 6-й месяцы) удалось добиться в 48,4% случаев ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в то время как в группе «СМТ» асцит не определялся и не рецидивировал только у 7,1% пациентов. Различия между группами на фоне лечения были статистически значимы ($p = 0,042$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Таблица 21 – Оценка степени тяжести асцита в группах на фоне терапии

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Асцит (IAC), до		Асцит (IAC), после		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ	I ст.	6	42,9	6	42,9	0,180
	II ст.	4	28,6	4	28,6	
	III ст.	4	28,6	3	21,4	
	не определяется	0	0,0	1	7,1	
СМТ + Альбумин	I ст.	12	38,7	10	32,3	< 0,001*
	II ст.	12	38,7	4	12,9	
	III ст.	7	22,6	2	6,5	
	не определяется	0	0,0	15	48,4	

р	0,794	0,042*	–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>			

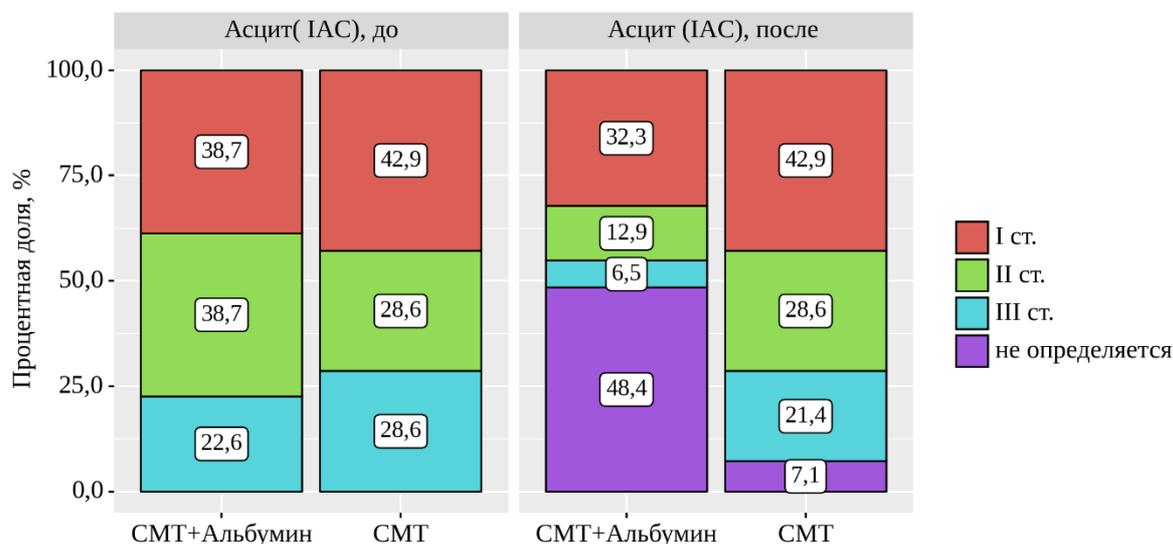


Рисунок 22 – Оценка степени тяжести асцита в группах на фоне терапии

Для оценки влияния уровня альбумина и его структурно-функциональных свойств на наличие асцитического синдрома на фоне лечения пациенты были разделены на 2 группы – без наличия асцита и с асцитом любой степени выраженности. Это позволило установить, что среднее значение сывороточного альбумина в группе пациентов, достигших разрешения асцита, было равно 42,11 г/л, в то время как асцит сохранялся при уровне альбумина 33,96 г/л ($p < 0,001$). Отсутствие асцита сопровождалось более высоким показателем нативной конформации альбумина, равным 1,05. У пациентов, не достигших разрешения асцита – -1,90 ($p < 0,001$).

Связывающая способность также была выше у пациентов без асцита (73,51%) в сравнении с группой пациентов с асцитом (39,57%), $p < 0,003$. Показатели транспортной активности (75,10%) и детоксикационной способности (72,71%) значительно превышали показатели пациентов с асцитом – 40,23% и 29,83% ($p < 0,001$, $p = 0,014$, соответственно).

Таким образом, в группе пациентов, достигших полной регрессии асцита (через 3 месяца лечения) и без его рецидива после отмены заместительной

терапии альбумином (с 3 по 6 месяцы наблюдения), уровень сывороточного альбумина был равен $42,11 \pm 7,04$, показатель DR 1,05, BE 73,51%, RTQ 75,10%, DTE 72,71%.

Для построения прогностической модели с целью определения вероятности рецидива асцита в последующие 3 месяца после окончания трансфузионной терапии, в зависимости от показателя нативной конформации, была разработана прогностическая модель методом бинарной логистической регрессии. Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p = 0,003$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 28,3% наблюдаемой дисперсии показателя рецидива асцита, после прекращения лечения. При увеличении показателя DR на 1 шансы рецидива асцита уменьшались в 1,725 раза (Таблица 22).

Таблица 22 – Характеристики связи предикторов модели с вероятностью выявления рецидива асцита через 3 месяца после окончания лечения

<i>Предикторы</i>	<i>Unadjusted</i>		<i>Adjusted</i>	
	COR; 95%-й ДИ	p	AOR; 95%-й ДИ	p
DR	0,580; 0,383–0,877	0,010*	0,580; 0,383–0,877	0,010*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>				

При оценке зависимости вероятности рецидива асцита от значения логистической функции P с помощью ROC-анализа была получена кривая, представленная на Рисунке 23.

Площадь под ROC-кривой составила $0,800 \pm 0,071$ с 95%-м ДИ 0,660–0,939. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,002$), Рисунок 24.

Пороговое значение логистической функции P в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,67. Отсутствие рецидива асцита прогнозировалось при значении логистической функции P выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 68,2% и 81,2%, соответственно (Таблица 23, Рисунок 23).

Таблица 23 – Пороговые значения логистической функции Р

Порог	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	PPV	NPV
0,772	50,0	93,8	88,9	65,2
0,765	50,0	87,5	80,0	63,6
0,745	54,5	87,5	81,4	65,8
0,697	54,5	81,2	74,4	64,1
0,689	59,1	81,2	75,9	66,5
0,674	68,2	81,2	78,4	71,9
0,643	68,2	68,8	68,6	68,4
0,541	77,3	68,8	71,2	75,2
0,500	77,3	56,2	63,8	71,2
0,485	81,8	50,0	62,1	73,3
0,460	86,4	50,0	63,3	78,6

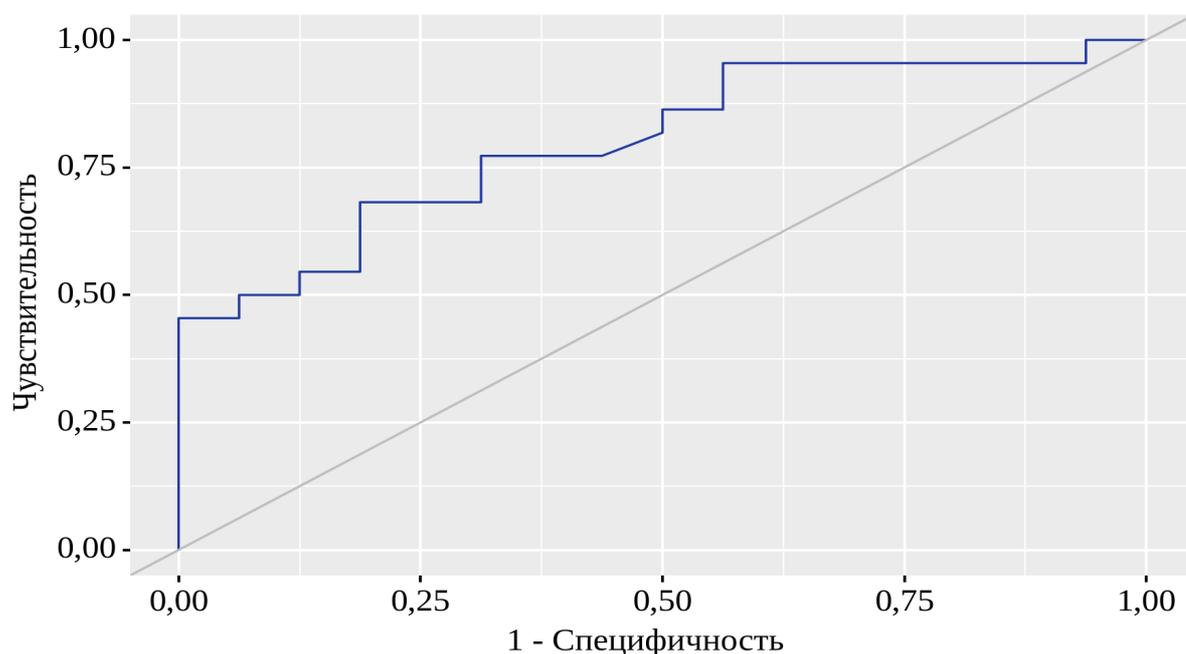


Рисунок 23 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности рецидива асцита после лечения от значения логистической функции Р

Таким образом, было показано, что значение показателя нативной конформации DR было независимым предиктором отсутствия рецидива асцита после прерывания курса заместительной терапии. При значении DR выше 0,67

вероятность рецидива асцита снижалась, а увеличение DR на 1 снижало риск рецидива асцита в 1,7 раз.

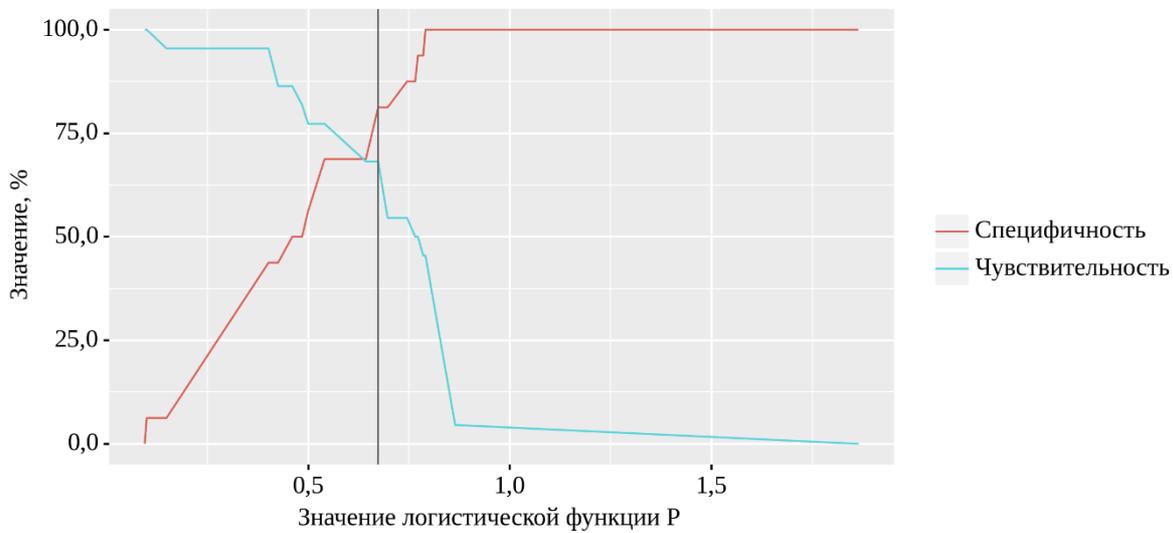


Рисунок 24 – Анализ чувствительности и специфичности модели в зависимости от пороговых значений логистической функции P

В ходе интерпретации полученных данных был проведен анализ выраженности печеночной энцефалопатии на фоне лечения у групп исследования. Согласно полученным данным, исходные оцениваемые параметры в группах не различались ($p = 0,094$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

В группе «СМТ + Альбумин» отмечалось снижение доли пациентов с явной ПЭ с 15,2% до 3% ($p = 0,025$) (используемый метод: критерий Уилкоксона). В группе «СМТ» данный показатель также снижался с 35,7% до 14,3%, но был статистически незначим ($p = 0,180$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), Таблица 24, Рисунок 25.

Таким образом, в группе заместительной терапии альбумином (СМТ + Альбумин) наблюдалось снижение числа пациентов с явной ПЭ [32]. Это объясняется способностью альбумина оказывать эндотелио- и нейропротективное действие.

Таблица 24 – Распределение пациентов с ПЭ до и после лечения в исследуемых группах

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Стадия ПЭ (до)		Стадия ПЭ (после)		
		Абс.	%	Абс.	%	
СМТ + Альбумин	нет	16	48,5	17	51,5	0,025*
	скрытая	12	36,4	15	45,5	
	явная	5	15,2	1	3,0	
СМТ	нет	3	21,4	3	21,4	0,180
	скрытая	6	42,9	9	64,3	
	явная	5	35,7	2	14,3	
p		0,146		0,094		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>						

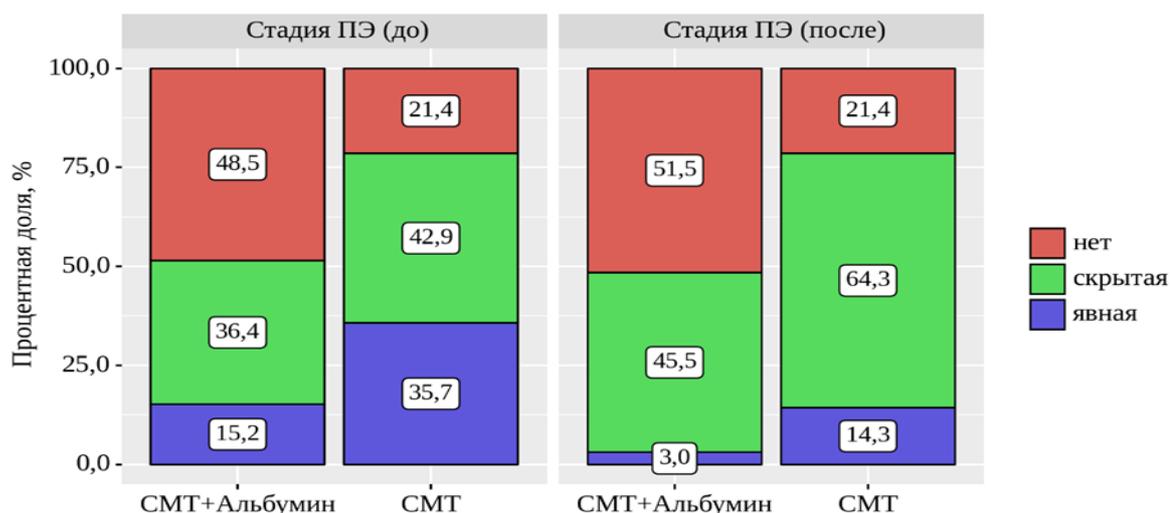


Рисунок 25 – Распределение пациентов с ПЭ до и после лечения в исследуемых группах

Также была проанализирована динамика разрешения желтухи у пациентов в исследуемых группах до и после лечения. В сравнении с исходными показателями не удалось выявить достоверных различий через 3 месяца в обеих группах. Однако стоит обратить внимание на существование тенденции к увеличению доли пациентов без желтухи в группе «СМТ + Альбумин» с 54,5 до 72,7%, хотя различия и не были статистически значимы ($p = 0,083$) (используемый метод: тест Макнемара), Таблица 25, Рисунок 26.

Таблица 25 – Наличие желтухи на фоне терапии в лечебных группах

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Наличие желтухи (до)		Наличие желтухи (после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ + Альбумин	нет	18	54,5	24	72,7	0,083
	есть	15	45,5	9	27,3	
СМТ	нет	7	53,8	9	69,2	0,317
	есть	6	46,2	4	30,8	
p		1,000		1,000		–

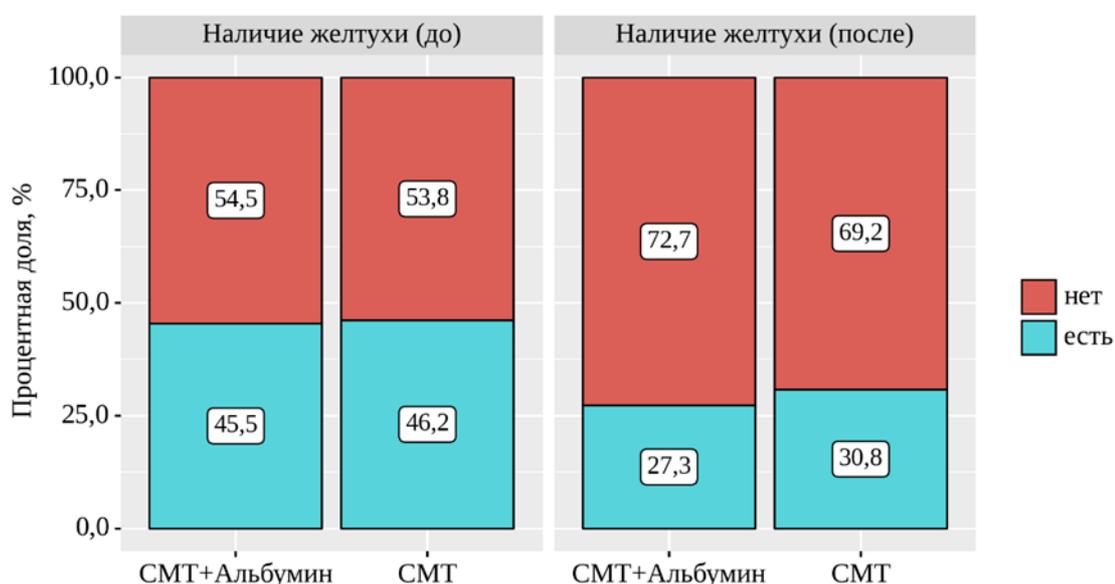


Рисунок 26 – Наличие желтухи на фоне терапии в лечебных группах

При анализе частоты эпизодов кровотечения из ВРВП и желудка значимых различий между группами лечения обнаружено не было ($p = 0,815$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона), Таблица 26, Рисунок 27.

При оценке влияния заместительной терапии альбумином на динамику разрешения желтушного синдрома и число эпизодов кровотечения из ВРВП и желудка значимых различий между группами не обнаружено.

Таблица 26 – Число эпизодов кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и желудка у исследуемых групп

Показатель	Категории	Число эпизодов кровотечения за 3	p
------------	-----------	----------------------------------	---

		месяца			
		нет	одно	два	
Группы лечения	СМТ + альбумин	27 (71,1%)	5 (71,4%)	1 (50,0%)	0,815
	СМТ	11 (28,9%)	2 (28,6%)	1 (50,0%)	

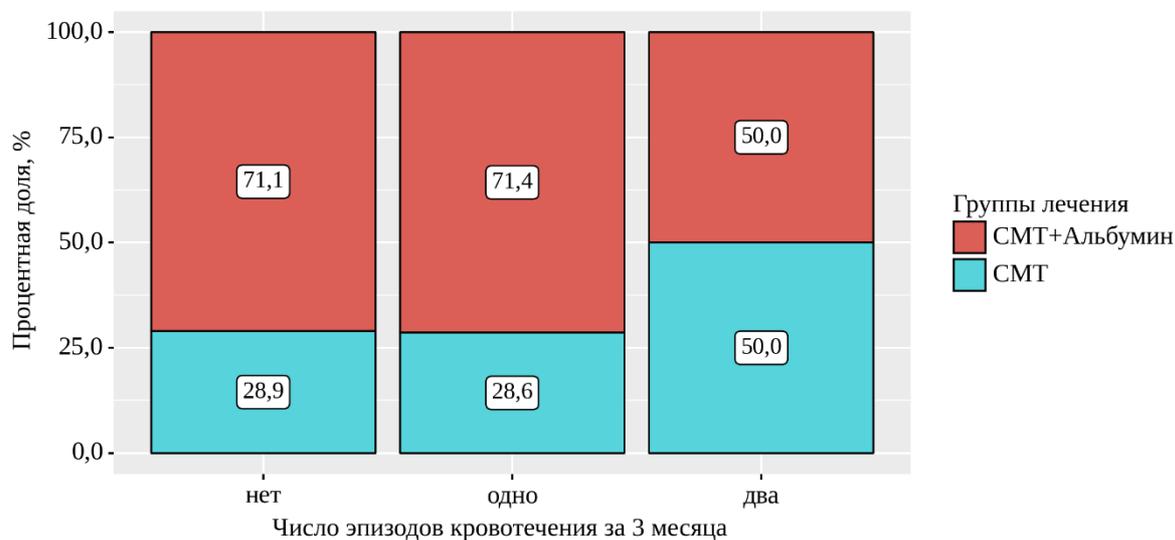


Рисунок 27 – Число эпизодов кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и желудка у исследуемых групп

3.3.2 Оценка структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина методом ЭПР-спектроскопии у пациентов с декомпенсированным ЦП в динамике

Нативная конфигурация молекулы альбумина

Был проведен сравнительный анализ показателя нативной конфигурации молекулы альбумина (DR) у исследуемых групп до и после лечения через 3 месяца. Исходные значения показателя нативной конформации (DR) в лечебных группах не отличались ($p = 0,507$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни). При анализе показателя нативности в динамике через 3 месяца от начала наблюдения между группами были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни).

В ходе анализа в группе «СМТ + Альбумин» величина нативной конформации достоверно увеличилась. Медиана до лечения была равна -2,07 и 0,42 после лечения ($p < 0,001$), (используемый метод: критерий Уилкоксона). В процессе анализа в группе «СМТ» не удалось установить статистически значимых изменений ($p = 0,391$), (используемый метод: критерий Уилкоксона), Таблица 27, Рисунок 28.

Таблица 27 – Сравнение показателей нативной конфигурации DR в группах лечения до и после терапии

Группы лечения	Этапы наблюдения				p
	DR (до)		DR (после)		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
СМТ + Альбумин	-2,07 (n = 33)	-2,42 – -0,75	0,42 (n = 33)	-0,81 – 1,45	< 0,001*
СМТ	-2,00 (n = 14)	-2,56 – -1,69	-2,27 (n = 14)	-2,44 – -1,89	0,391
p	0,507		< 0,001*		–

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

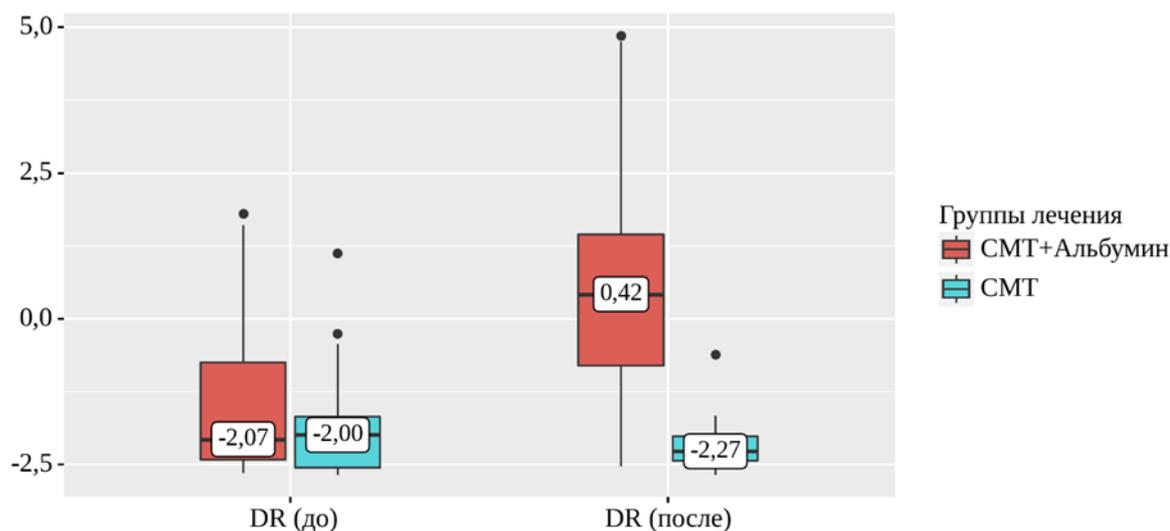


Рисунок 28 – Сравнение показателей нативной конфигурации DR в группах лечения до и после терапии

Таким образом, было показано, что на фоне заместительной терапии альбумином достоверно возрастает величина нативной конформации альбумина.

Чтобы установить, в каком числе случаев альбумин способен восстанавливать свою нарушенную конфигурацию было проанализировано число больных с неизменной структурой альбумина до и после лечения. Молекулярная конформация считалась патологической при значении $DR < 0,8$. Доля пациентов, восстановивших молекулярную структуру собственного альбумина через 3 месяца лечения представлена в Таблице 28. Все пациенты с ЦП на момент включения в исследование имели патологический фенотип молекулы альбумина. В ходе заместительной терапии альбумином из 33 пациентов группы «СМТ + Альбумин» у 14 (42,4%) больных молекулярная конформация восстановила нормальную структуру. В группе «СМТ» – по-прежнему сохранялась патологически нарушенная конформация альбумина. Полученные различия были статистически значимы и достоверны ($p < 0,001$), используемый метод: тест Макнемара, Рисунок 29.

Таблица 28 – Патологическое изменение молекулы альбумина в исследуемых группах до и после лечения

Группы лечения	Категории	Этапы наблюдения				p
		Патологические изменения молекулы альбумина				
		DR < 0,8 (до)		DR < 0,8 (после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ	есть	14	100,0	14	100,0	–
	нет	0	< 0,001*	0	0,0	
СМТ + Альбумин	есть	33	100,0	19	57,6	< 0,001*
	нет	0	–	14	42,4	
p		–		0,004*		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>						

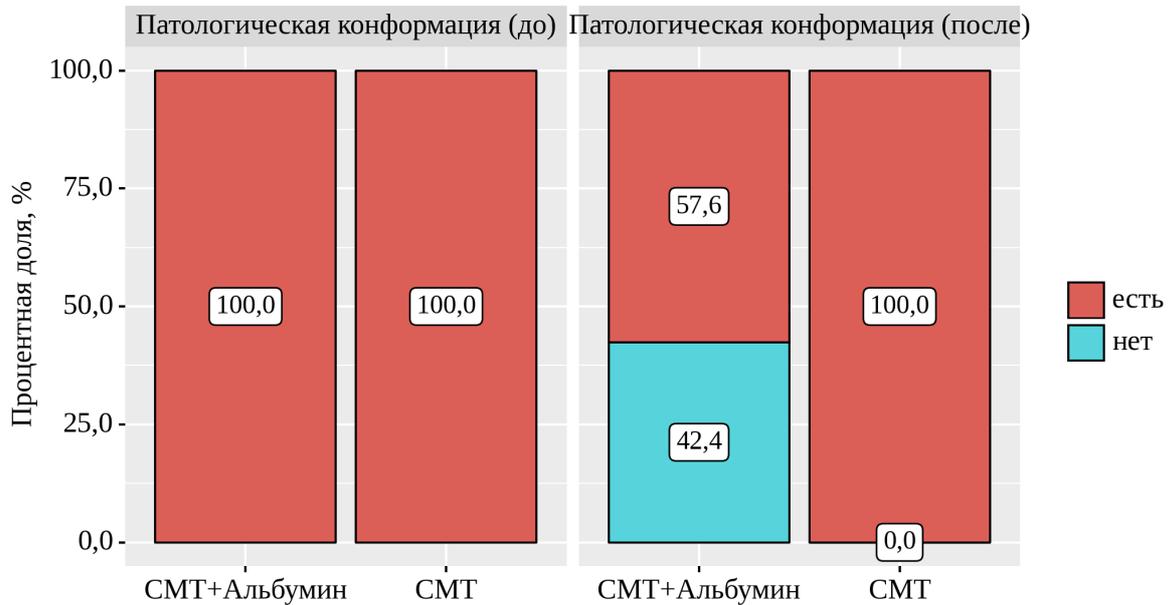


Рисунок 29 – Наличие патологической конформации альбумина в динамике

Таким образом, проводимая заместительная терапия альбумином в течении 3 месяцев способствовала восстановлению до нормы исходно патологической конформации молекулы альбумина у 42,4% пациентов. В то время, как в группе «СМТ» данной тенденции не наблюдалось.

Связывающая способность альбумина (ВЕ)

Проведенный анализ показал, что при оценке базового показателя связывающей способности альбумина статистически значимых различий между группами не выявлялось ($p = 0,561$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни). Однако способность к связыванию достоверно улучшалась в группе «СМТ + Альбумин» по сравнению с группой «СМТ» ($p < 0,001$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни). Связывающая способность альбумина считалась сниженной при значении $BE < 60\%$.

Медиана показателя ВЕ в группе «СМТ + Альбумин» увеличивалась с 37,62% до 71,98%, ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), в то время как в группе «СМТ» достоверных различий обнаружено не было ($p = 0,463$), (используемый метод: критерий Уилкоксона), Таблица 29 и Рисунок 30.

Таблица 29 – Анализ динамики связывающей способности альбумина ВЕ в лечебных группах

Группы лечения	Этапы наблюдения				p
	ВЕ (до)		ВЕ (после)		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
СМТ + Альбумин	37,62 (n = 33)	29,05–45,41	71,98 (n = 33)	44,87–83,11	< 0,001*
СМТ	35,39 (n = 14)	18,92–46,87	27,09 (n = 14)	23,21–40,53	0,463
p	0,561		< 0,001*		–

Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

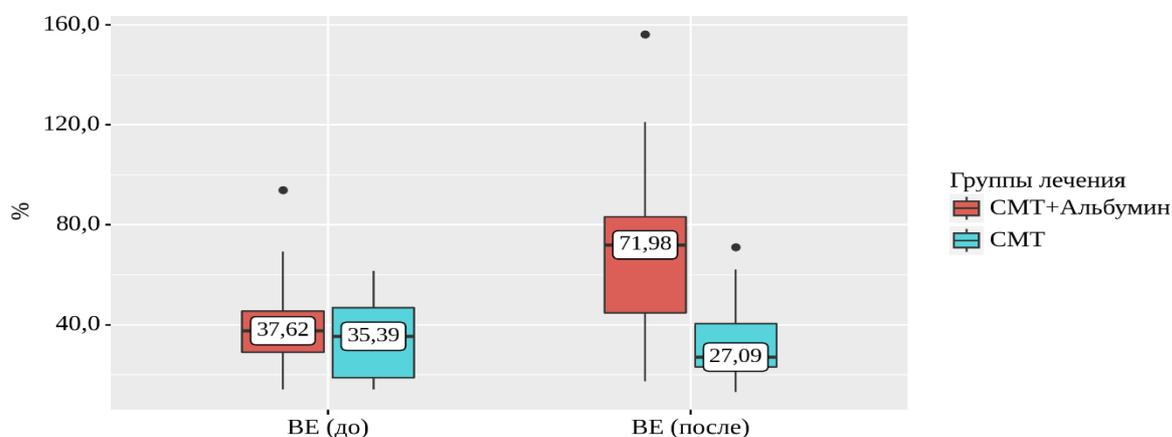


Рисунок 30 – Анализ динамики связывающей способности альбумина ВЕ в лечебных группах

Было показано, что в группе «СМТ + Альбумин» из 30 пациентов, исходно имевших сниженные показатели ВЕ, у 13 (43%) больных он продолжал оставаться ниже нормы. У 17 (56%) пациентов заместительная терапия альбумином привела к восстановлению данной функции альбумина.

Таким образом, к концу трехмесячного периода наблюдения из 33 пациентов у 20 (60.6%) пациентов связывающая активность была на физиологическом уровне (p < 0,001), (используемый метод: тест Макнемара). Среди пациентов базисной терапии (СМТ) исходный показатель ВЕ был снижен у 12 больных, и у 2 был в пределах нормальных значений. Однако через 3 месяца

соотношение данных параметров не изменилось. Подробная информация представлена в Таблице 30 и на Рисунке 31.

Таблица 30 – Анализ связывающей способности альбумина в динамике в зависимости от лечебных групп

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Связывающая способность (N BE > 60%)				
		(до)		(после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ + Альбумин	снижена	30	90,9	13	39,4	< 0,001*
	не изменена	3	9,1	20	60,6	
СМТ	снижена	12	85,7	12	85,7	1,000
	не изменена	2	14,3	2	14,3	
p		0,627		0,004*		–

*Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)*

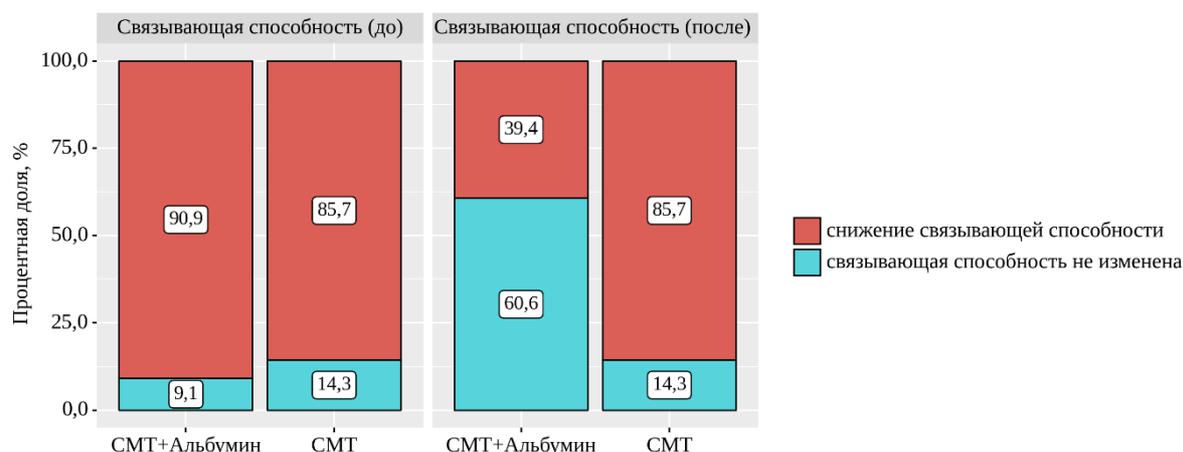


Рисунок 31 – Анализ связывающей способности альбумина в динамике в зависимости от лечебных групп

Таким образом, заместительная терапия альбумином достоверно оказывала положительное влияние на связывающую способность сывороточного альбумина, увеличивая показатели BE и повышая долю пациентов с нормальным связывающим потенциалом.

Транспортная активность альбумина RTQ

В ходе анализа полученных данных были изучены показатели транспортной активности альбумина в динамике у исследуемых групп лечения.

Исходные значения у обеих групп не различались ($p = 0,502$) (используемый метод: t-критерий Стьюдента). Через 3 месяца терапии значения RTQ улучшились в группе «СМТ + Альбумин» и различия между исследуемыми группами достигли статистически значимых различий ($p < 0,001$) (используемый метод: t-критерий Стьюдента). В процессе анализа в группе «СМТ + Альбумин» были установлены статистически значимые изменения. Среднее значение RTQ до лечения составляло $40,16 \pm 16,21$ и после лечения $61,88 \pm 20,18$ ($p < 0,001$) (используемый метод: парный t-критерий Стьюдента).

В группе «СМТ» не удалось выявить статистически значимых изменений ($p = 0,631$) (используемый метод: парный t-критерий Стьюдента), Рисунок 32 и Таблица 31.

Таблица 31 – Анализ транспортной активности альбумина (RTQ) в динамике в зависимости от лечебных групп

Группы лечения	Этапы наблюдения				p
	RTQ (до)		RTQ (после)		
	М ± SD	95%-й ДИ	М ± SD	95%-й ДИ	
СМТ + Альбумин	$40,16 \pm 16,21$ (n = 33)	34,42–45,91	$61,88 \pm 20,18$ (n = 33)	54,73–69,04	< 0,001*
СМТ	$36,54 \pm 18,14$ (n = 14)	26,07–47,02	$34,79 \pm 16,84$ (n = 14)	25,07–44,52	0,631
p	0,502		< 0,001*		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>					

Аналогично предыдущим показателям, было определено, возможно ли восстановление транспортной функции альбумина до нормальных значений в группах пациентов на фоне терапии. Показатель $RTQ < 55\%$ считался индикатором снижения транспортной функции альбумина. По исходным данным группы не отличались.

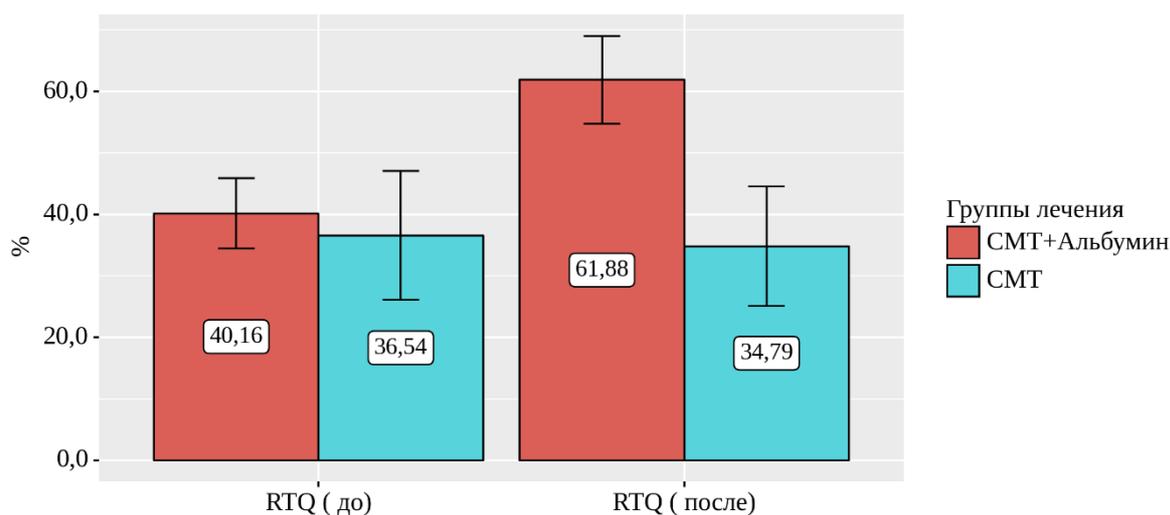


Рисунок 32 – Анализ транспортной активности альбумина в динамике в зависимости от лечебных групп

В группе «СМТ + Альбумин» до начала терапии доля пациентов с нарушением транспортной функции составляла 81,8% ($n = 27$), в группе «СМТ» 78,6% ($n = 11$). Через 3 месяца в группе «СМТ + Альбумин» доля пациентов с нарушенной транспортной активностью уменьшилась до 36,4% ($n = 12$). Таким образом, доля пациентов с нормальной транспортной функцией в группе заместительной терапии альбумином (СМТ + Альбумин) составила 63,6% ($n = 21$) ($p < 0,001$) (используемый метод: тест Макнемара) против 14,3% ($n = 2$) в группе «СМТ» ($p = 0,564$) (используемый метод: тест Макнемара). Данные различия между группами через 3 месяца были статистически значимыми, ($p = 0,003$) (используемый метод: тест Макнемара), Таблица 32, Рисунок 33.

Таблица 32 – Анализ транспортной активности альбумина на фоне лечения в исследуемых группах

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Снижение RTQ < 55%				
		(до)		(после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ + Альбумин	есть	27	81,8	12	36,4	< 0,001*
	нет	6	18,2	21	63,6	
СМТ	есть	11	78,6	12	85,7	0,564
	нет	3	21,4	2	14,3	
p		1,000		0,003*		–

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

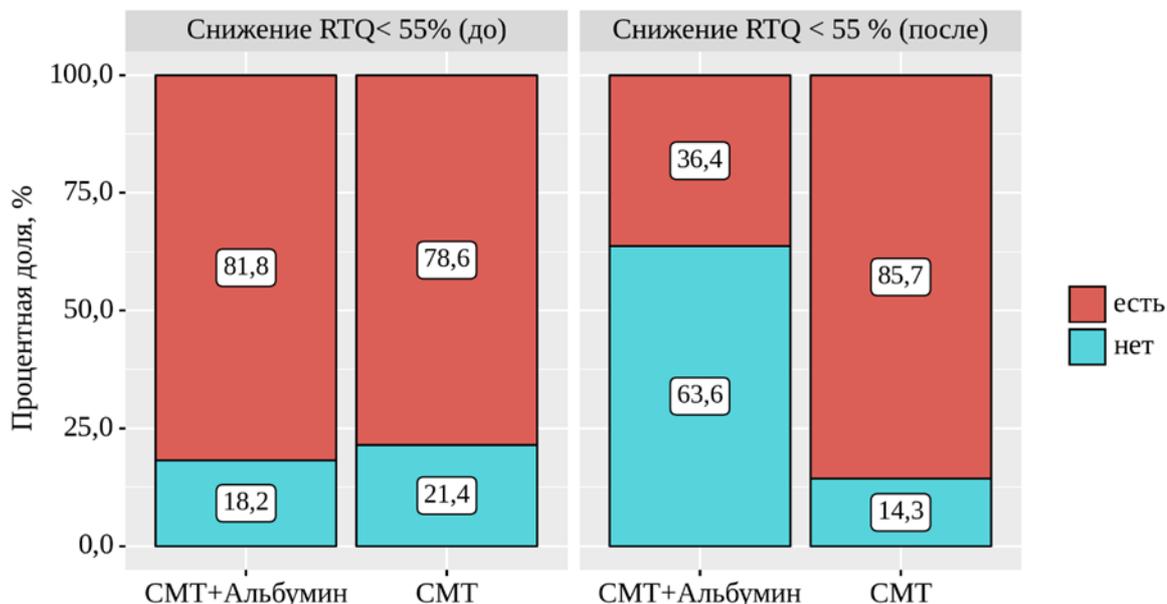


Рисунок 33 – Анализ транспортной активности альбумина на фоне лечения в исследуемых группах

Таким образом, заместительная терапия альбумином достоверно оказывала положительное влияние на восстановление транспортной активности сывороточного альбумина.

Это выразалось в увеличении показателя RTQ, а также в значительном приросте пациентов с нормальным транспортным потенциалом.

Детоксикационная активность альбумина (DTE) в динамике

Был проведен анализ детоксикационной функции альбумина в динамике у групп испытуемых.

При сравнении базовых показателей DTE до лечения в исследуемых группах различий не наблюдалось ($p = 0,457$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни).

При сравнении данных показателей через 3 месяца между группами наблюдались статистически значимые различия ($p = 0,002$) (используемый метод: U-критерий Манна – Уитни).

Так, в группе «СМТ + Альбумин» медиана показателя DTE увеличилась с 25% до 58,62% ($p < 0,001$), (используемый метод: критерий Уилкоксона). В

группе «СМТ» детоксикационная способность альбумина имела тенденцию к снижению, однако статистически значимых различий выявить не удалось ($p > 0,05$) (используемый метод: критерий Уилкоксона), Таблица 33 и Рисунок 34.

Таблица 33 – Детоксикационная активность альбумина в динамике у пациентов исследуемых групп

Группы лечения	Этапы наблюдения				p
	DTE (до)		DTE (после)		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
СМТ + Альбумин	25,00 (n = 33)	19,53–40,95	58,62 (n = 33)	34,10–88,53	< 0,001*
СМТ	27,94 (n = 14)	11,07–38,84	16,04 (n = 14)	13,05–37,63	1,000
p	0,457		0,002*		–

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

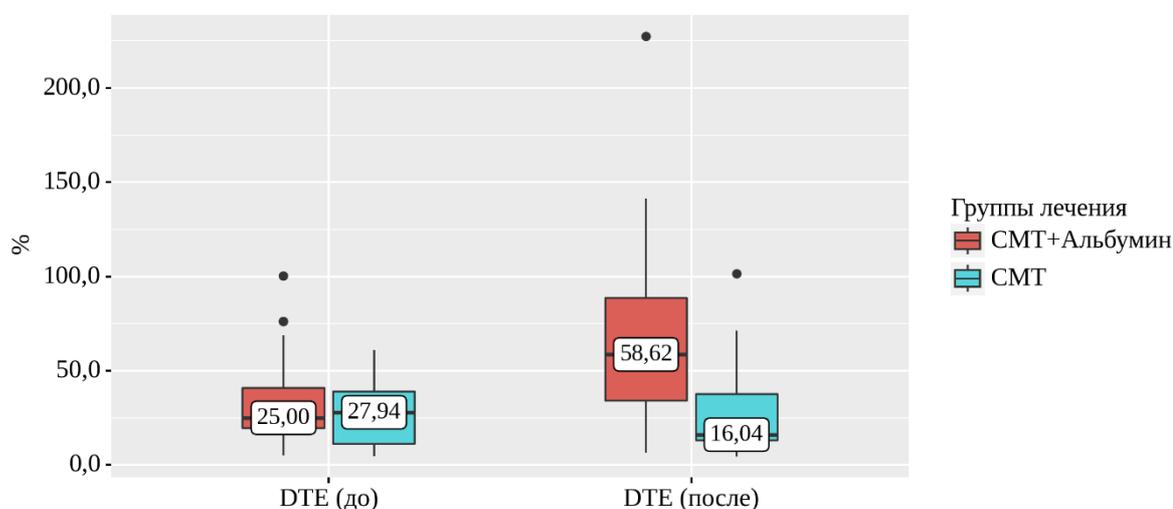


Рисунок 34 – Детоксикационная активность альбумина в динамике у пациентов исследуемых групп

Было показано, что доля пациентов с нормальной детоксикационной активностью в группе «СМТ + Альбумин» достоверно возростала с 27,3% до 60,6% через 3 месяца лечения ($p = 0,002$) (используемый метод: тест Макнемара). В то время как в группе «СМТ» практически не изменялась: 21,4% против 28,6% ($p = 0,317$) (используемый метод: тест Макнемара), Таблица 34, Рисунок 35.

Таким образом, заместительная терапия альбумином также достоверно оказывала положительное влияние на детоксикационную активность сывороточного альбумина.

Таблица 34 – Доля пациентов со сниженной детоксикационной активностью альбумина в исследуемых группах в динамике

Группы лечения	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Снижение DTE < 40%				
		(до)		(после)		
		абс.	%	абс.	%	
СМТ + Альбумин	есть	24	72,7	13	39,4	0,002*
	нет	9	27,3	20	60,6	
СМТ	есть	11	78,6	10	71,4	0,317
	нет	3	21,4	4	28,6	
p		1,000		0,060		–
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>						

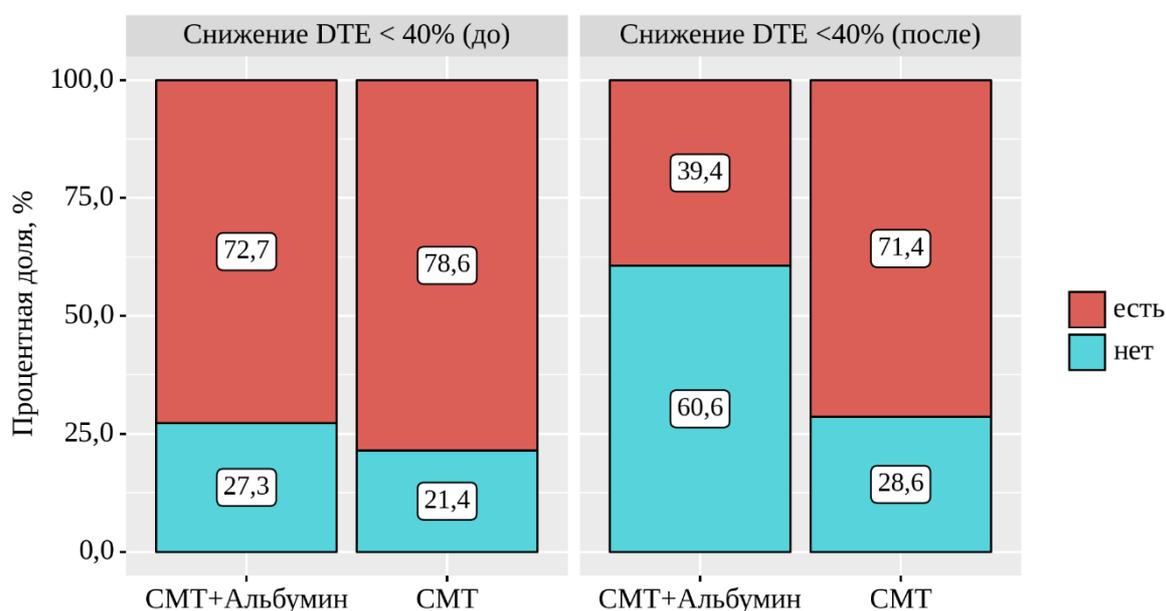


Рисунок 35 – Доля пациентов со сниженной детоксикационной активностью альбумина в исследуемых группах в динамике

3.4 Влияние уровня альбумина, его структурных и функциональных свойств на показатели выживаемости пациентов за 24 месяца

В конечной оцениваемой точке через 24 месяца наблюдения были получены следующие результаты: в группе «СМТ + Альбумин» потеряна связь с 4 (11,4%) пациентами, трансплантация печени проведена 2 больным (5,7%). Выживших было 23 человека (65,7%), летальный исход – 6 (17,1%). В группе «СМТ» трансплантация печени не проводилась ни одному пациенту. Выжили 7 пациентов (46,7%), умерли 8 (53,3%). При сравнении показателей исхода в зависимости от группы лечения, были установлены существенные различия ($p = 0,044$) (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона), Таблица 35.

Таблица 35 – Структура исходов за оцениваемый период – 24 месяца

Показатель	Категории	Группы лечения		p
		СМТ + Альбумин	СМТ	
Исход	Жив	23 (65,7%)	7 (46,7%)	0,044*
	Летальный исход	6 (17,1%)	8 (53,3%)	
	Трансплантация печени	2 (5,7%)	0 (0,0%)	
	Потеряна связь с пациентом	4 (11,4%)	0 (0,0%)	
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>				

Согласно представленной Таблице 35, в группе лечения альбумином (СМТ + Альбумин) летальный исход регистрировался в меньшем числе случаев, по сравнению с группой «СМТ» ($p = 0,038$) (используемый метод: Точный критерий Фишера), Рисунок 36.

Таблица 36 – Анализ 24-месячной выживаемости пациентов в зависимости от группы лечения

Показатель	Категории	Группы лечения		p
		СМТ + Альбумин	СМТ	
Летальный исход	жив	25 (80,6%)	7 (46,7%)	0,038*

за 24 месяца	летальный исход	6 (19,4%)	8 (53,3%)	
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>				

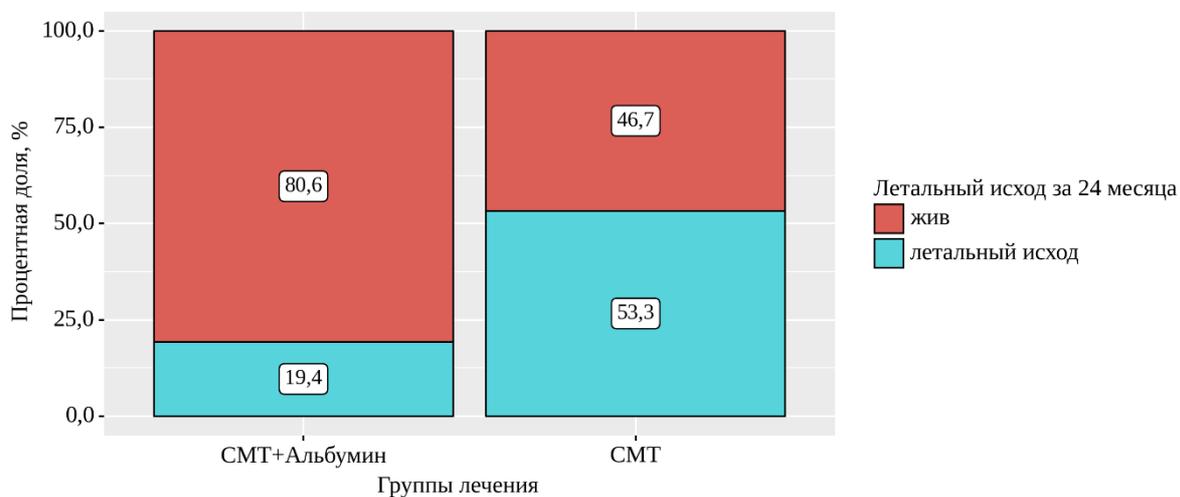
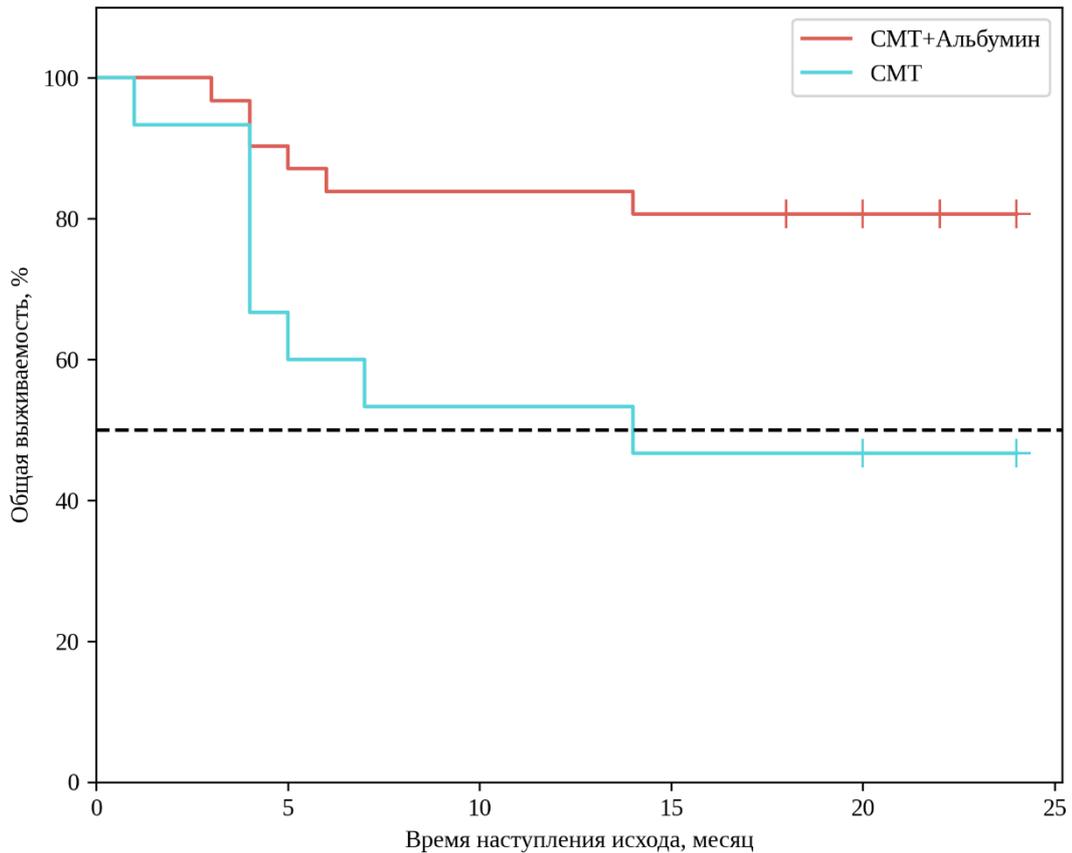


Рисунок 36 – Анализ 24-месячной выживаемости пациентов в зависимости от группы лечения

В зависимости от группы лечения, был проведен анализ общей выживаемости у исследуемых пациентов. Графики представлены на Рисунке 37.



СМТ+Альбумин						
Наблюдений	31	27	26	25	19	0
Цензурировано	0	0	0	0	6	25
Событий	0	4	5	6	6	6
СМТ						
Наблюдений	15	9	8	7	6	0
Цензурировано	0	0	0	0	1	7
Событий	0	6	7	8	8	8

Рисунок 37 – Кривая общей выживаемости в зависимости от группы лечения

Анализ показал, что медиана срока дожития в группе «СМТ + Альбумин» не была достигнута, медиана срока дожития в группе «СМТ» составила 14 месяцев от начала наблюдения (95%-й ДИ 4 – ∞ месяцев).

Показано, что 75-й перцентиль срока дожития в группе «СМТ + Альбумин» не был достигнут, 75-й перцентиль срока дожития в группе «СМТ» составил 4 месяца от начала наблюдения (95%-й ДИ 1–7 месяцев).

Установлено, что 25-й перцентиль срока дожития не был достигнут в обеих группах (Рисунок 37).

При проведении сравнительного анализа показателей альбумина у умерших и выживших пациентов, были получены следующие результаты. Среднее

значение альбумина у выживших пациентов было достоверно и значимо выше, чем у умерших пациентов – $39,78 \pm 6,60$ г/л vs $29,71 \pm 7,42$ г/л ($p < 0,001$, *t*-критерий Стьюдента), Таблица 37.

Таблица 37 – Сравнительная характеристика уровня альбумина, его структурной и функциональной полноценности у выживших пациентов и пациентов с летальным исходом

Показатели на фоне лечения	Категории	Летальный исход за 24 месяца			p
		M ± SD / Me	95%-й ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	
Альбумин (г/л)	жив	39,78±6,60	37,40–42,16	32	< 0,001*: <i>t</i> -критерий Стьюдента
	летальный исход	29,71±7,42	25,43–33,99	14	
DR	жив	0,4	-1,60 – 1,47	32	0,002* <i>U</i> -критерий Манна – Уитни
	летальный исход	-1,96	-2,44 – -0,91	14	
BE (%)	жив	72,28±30,58	59,80–82,63	32	< 0,001* <i>t</i> -критерий Стьюдента
	летальный исход	29,02±15,48	24,24–42,12	14	
RTQ (%)	жив	70,98	46,39–77,41	32	< 0,001* <i>U</i> -критерий Манна – Уитни
	летальный исход	34,79	24,42–50,11	14	
DTE (%)	жив	71,23	34,70–92,43	32	< 0,001* <i>U</i> -критерий Манна – Уитни
	летальный исход	18,05	13,26–34,17	14	
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)					

Медиана показателя нативной конформации альбумина в группе выживших пациентов составляла 0,4, в то время как у умерших пациентов данный показатель был снижен до -1,96 ($p = 0,002$; *U*-критерий Манна – Уитни).

Среднее значение связывающей способности альбумина у скончавшихся больных было почти в два раза ниже группы выживших пациентов: $29,02 \pm 15,48\%$ против $72,28 \pm 30,58\%$, соответственно ($p < 0,001$; *t*-критерий Стьюдента).

Также наблюдалось значимое и достоверное снижение медианы транспортной активности альбумина в группе умерших пациентов (34,79%) по

сравнению с группой выживших больных (70,98%), $p < 0,001$; *U-критерий Манна–Уитни*).

Медиана детоксикационной активности альбумина у пациентов с летальным исходом (18,05%) была почти в четыре раза ниже группы выживших больных (71,23%), $p < 0,001$, *U-критерий Манна – Уитни*, Таблица 37, Рисунок 38.

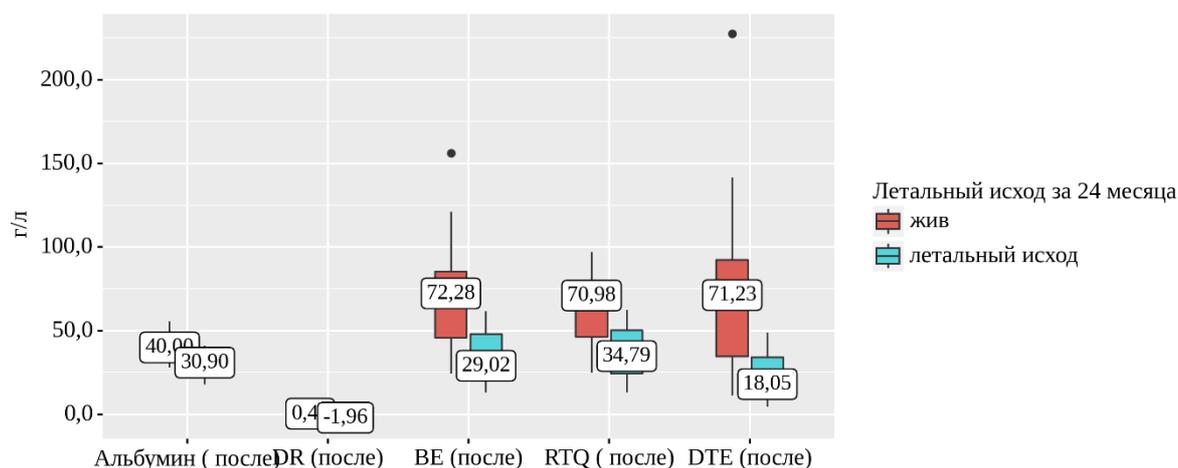


Рисунок 38 – Сравнительная характеристика уровня альбумина, его структурной и функциональной полноценности у выживших пациентов и пациентов с летальным исходом

При оценке зависимости вероятности летального исхода от уровня сывороточного альбумина, достигнутого на 3-м месяце лечения, с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 39).

Площадь под ROC-кривой составила $0,842 \pm 0,058$ с 95%-м ДИ 0,728–0,955. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$), Рисунок 39.

Пороговое значение показателя альбумина в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 34,4 г/л. Летальный исход прогнозировался при значении уровня альбумина ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели составили 71,4% и 81,2%, соответственно.

При оценке зависимости вероятности летального исхода от показателя DR с помощью ROC-анализа была получена кривая с площадью под ROC-кривой

$0,786 \pm 0,068$ с 95%-м ДИ $0,653-0,918$. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,002$).

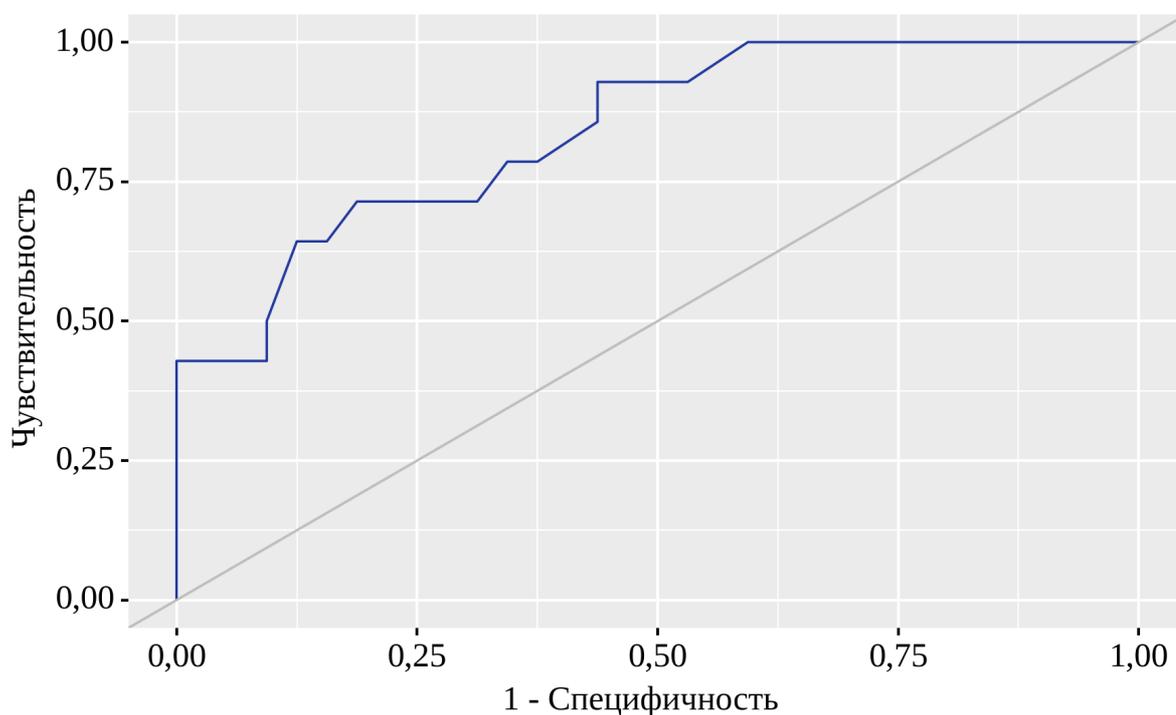


Рисунок 39 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности летального исхода за 24 месяца от уровня альбумина

Пороговое значение показателя DR в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило минус 0,42. Летальный исход прогнозировался при значении показателя DR ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели составили 92,9% и 56,2%, соответственно.

При оценке зависимости вероятности летального исхода от показателя связывающей способности альбумина с помощью ROC-анализа была получена кривая.

Площадь под ROC-кривой составила $0,857 \pm 0,055$ с 95%-м ДИ $0,750-0,964$. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Пороговое значение связывающей способности альбумина (BE) в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 62%. Летальный исход прогнозировался при значении показателя BE ниже данной величины.

Чувствительность и специфичность модели составили 100,0% и 62,5%, соответственно.

Площадь под ROC-кривой, отражающей зависимость транспортной активности от вероятности летального исхода, составила $0,839 \pm 0,058$ с 95%-м ДИ 0,725–0,953. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Пороговое значение показателя RTQ в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 57%. Летальный исход прогнозировался при значении показателя RTQ ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели составили 92,9% и 65,6%, соответственно.

Площадь под ROC-кривой отражающей зависимость детоксикационной активности от вероятности летального исхода, составила $0,843 \pm 0,057$ с 95%-м ДИ 0,730–0,955. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Пороговое значение показателя DTE в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 36,51%. Летальный исход прогнозировался при значении показателя DTE ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели составили 92,9% и 71,9%, соответственно. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Таким образом, было показано, что чувствительность и специфичность функциональных характеристик альбумина при построении модели летального исхода превосходила чувствительность и специфичность сывороточной концентрации альбумина.

Различия общей выживаемости, оцененные с помощью теста отношения правдоподобия, были статистически значимы ($p = 0,001$).

При оценке взаимосвязи общей выживаемости с изучаемыми факторами с помощью метода регрессии Кокса была получена следующая модель пропорциональных рисков.

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(-0,340 \times X_{\text{Альбумин (после лечения)}}), \quad (4)$$

где $h_i(t)$ – прогнозируемый риск летального исхода для i -го элемента наблюдения, %;
 $h_0(t)$ – базовый риск летального исхода за определенный временной период t , %;

$X_{\text{Альбумин (после лечения)}} - \text{Альбумин (после лечения)} \text{ (г/л)}$, Таблица 38.

Таблица 38 – Изменения рисков летального исхода в зависимости от уровня альбумина

Фактор риска	Unadjusted		Adjusted	
	HR; 95%-й ДИ	p	HR; 95%-й ДИ	p
Альбумин	0,712; 0,528 – 0,960	0,026*	0,712; 0,528 – 0,960	0,026*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>				

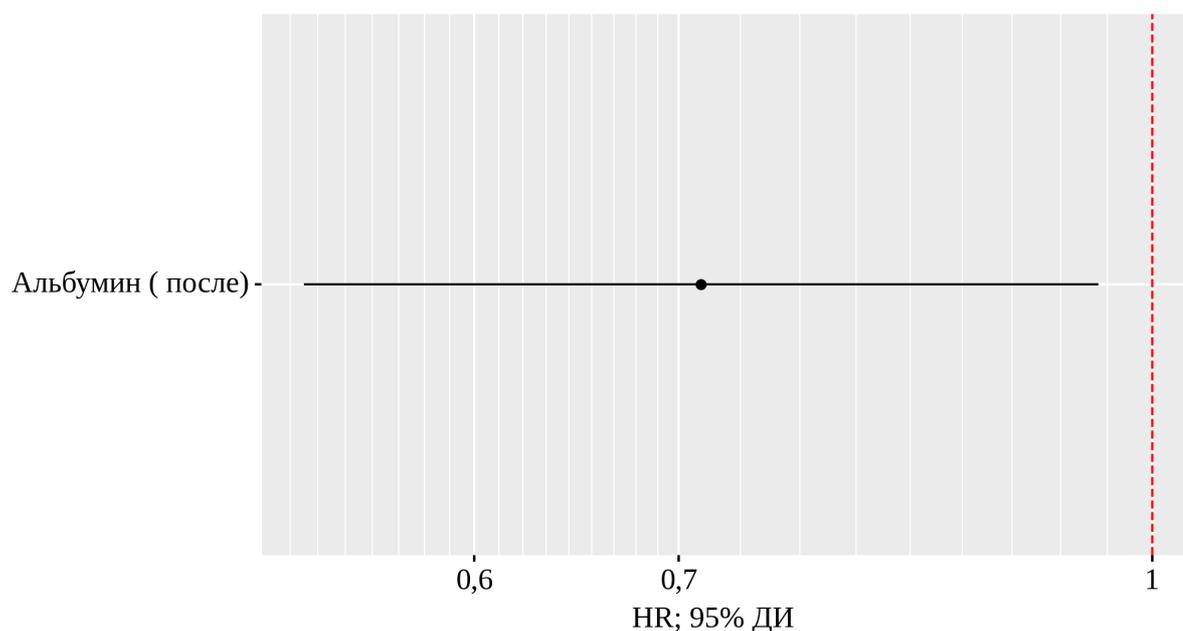


Рисунок 40 – Зависимость риска летального исхода в течение 24 месяцев от уровня альбумина (отношения рисков с 95%-м ДИ для изучаемого фактора)

При увеличении уровня альбумина через 3 месяца терапии на 1 г/л – риски летального исхода уменьшались в 1,405 раза.

Таким образом, было доказано, что заместительная терапия альбумином, улучшает показатели выживаемости по сравнению с базисной терапией.

Показано, что независимым фактором риска летальности является уровень сывороточного альбумина.

Значение альбумина ниже 34,4 г/л является фактором риска летального исхода.

Увеличение уровня сывороточного альбумина на 1 г/л уменьшает риск летального исхода в 1,4 раза.

Пороговое значение показателя нативной конформации, при котором прогнозировался летальный исход было ниже минус 0,42.

3.5 Клинические наблюдения

3.5.1 Клиническое наблюдение 1

Пациентка О., 58 лет, обратилась в клинику пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В. Х. Василенко с жалобами на тяжесть в правом подреберье, общую слабость, утомляемость, увеличение живота в размерах, отеки ног, дневную сонливость, тремор рук.

Из анамнеза известно, что в 2016 г. при рутинном обследовании были выявлены антитела к вирусу гепатита С. Однако пациентка чувствовала себя удовлетворительно и за медицинской помощью не обращалась. Позднее, в 2019 г. при обследовании вновь определялись антитела к вирусу гепатита С, тромбоцитопения – 58×10^9 /л. Определен генотип 1б, вирусная нагрузка $3,4 \times 1000$ копий/мл. В сентябре 2019 проведена противовирусная терапия препаратами аналогов нуклеозидов/нуклеотидов. После перенесенной новой коронавирусной пневмонии в октябре 2020 г. отметила нарастание вышеуказанных симптомов, в связи с чем обратилась в клинику.

Объективно: состояние средней тяжести. Сознание ясное. Рост 162 см, вес 100 кг. ИМТ $35,43 \text{ кг/м}^2$. Температура тела 36,6 градусов. Кожа обычной окраски. Видимые слизистые розовые. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 16 в мин. SatO₂ – 99%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, ЧСС – 74 в мин. АД 120 и 80 мм рт. ст. Живот увеличен за счет ненапряженного асцита. При пальпации: мягкий, умеренно болезненный в области правого подреберья. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Печень увеличена (+2 см по

средне-ключичной линии). Пальпируется нижний полюс селезенки. Симптомов раздражения брюшины нет. Симметричные отеки в области голеней и стоп. Стул регулярный, без патологических примесей. Мочеиспускание не нарушено.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра пациентке был установлен предварительный диагноз: Цирроз печени вирусной С этиологии, класс В по Child-Pugh. Портальная гипертензия: асцит 2-й степени, спленомегалия.

Пациенткой было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

При обследовании:

В общем анализе крови: гемоглобин – 131 г/л, эритроциты – $5,12 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $5,2 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 65×10^9 /л, СОЭ – 23 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 140 ммоль/л; калий – 4,1 ммоль/л, аланиновая аминотрансфераза – 39 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 35 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 50 ед/л; щелочная фосфатаза – 241 ед/л; общий белок – 63,9 г/л; альбумин – 35,2 г/л; глюкоза – 76 мг/л; креатинин – 96,56 мкмоль/л; билирубин общий – 16,4 мкмоль/л; прямой билирубин – 6,3 мкмоль/л; С-реактивный белок: 24 мг/л.

В коагулограмме: процент протромбина по Квику – 57%; активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,05; МНО – 1,59; Протромбиновое время – 17,7 сек; Тромбиновое время – 24,6 сек; Фибриноген – 2,82 г/л;

ПЦР крови на РНК вируса гепатита С: не обнаружено.

Уровень онкомаркеров в норме.

Анализ мочи без особенностей.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости: Большое количество жидкости в брюшной полости. Печень увеличена: левая доля 71×127 мм (норма до 60×100), правая доля 88×127 мм (норма до 125×145), контуры неровные, мелкобугристые, паренхима повышенной эхогенности, уплотнена и с кальцинатами по портальным трактам. Портальная вена: диаметр

расширен,

15–16 мм (норма до 13 мм). Поджелудочная железа 27–16–26 мм, контуры ровные, паренхима пониженной эхогенности. Вирсунгов проток не расширен. Селезенка: размеры значительно увеличены, 240×64 мм; эхоструктура обычная. Желчный пузырь: размер увеличен, 125×41×35 мм. Форма изменена, перегиб на границе тела и шейки. Толщина стенки неравномерная, увеличена до 3–4 мм. Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура однородная. Содержимое неоднородное в просвете лоцируется не менее 2 конкрементов размером 24 мм и 17 мм.

Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена. Свободная жидкость определяется: вокруг печени толщиной до 15 мм, по латеральным каналам толщиной 50–70 мм, вокруг селезенки до 30 мм, в полости малого таза объемом около 800 см³.

При ЭГДС: пищевод проходим, вены его расширены в средней трети до 0,5 см синюшного цвета, в желудке много желчи, слизистая желудка гиперемирована и очагово истончена в антральном отделе, угол не изменен, привратник проходим, луковица 12 п.к. средних размеров, слизистая ее очагово гиперемирована.

Клинический диагноз:

Основное заболевание: цирроз печени вирусной С этиологии (1б генотип), класс В по Child-Pugh (8 баллов). Портальная гипертензия: спленомегалия с синдромом гиперспленизма: тромбоцитопения; ненапряженный асцит (IAC II ст.); варикозное расширение вен пищевода и желудка 2 степени.

Осложнение основного заболевания: Печеночная недостаточность: гипокоагуляция. Печеночная энцефалопатия I степени.

Сопутствующие заболевания: Ожирение II ст. ЖКБ: калькулёзный холецистит вне обострения.

Анализ структурных и функциональных свойств альбумина методом ЭПР-спектроскопии: DR – 1,87, BE – 35,44%, RTQ – 36,36%, DTE – 22,88%.

Таким образом, у пациентки с декомпенсированным ЦП и асцитом 2-й ст., обращало на себя внимание нормальное содержание уровня альбумина в крови и нарушение его структурно-функциональных характеристик.

Методом случайной рандомизации пациентка была распределена в группу СМТ + Альбумин. Помимо базисной терапии (диуретическая терапия антагонистами альдостерона, рифаксимин, Л-орнитин-Л-аспартат, неселективные бета адреноблокаторы), пациентке была назначена заместительная терапия 20% раствором альбумина – 200 мл в неделю.

Динамика на фоне лечения через три месяца:

На фоне лечения отмечалось уменьшение слабости, утомляемости. Отеки нижних конечностей не беспокоили. Жалоб на увеличение в объеме живота не предъявляла. Пациентка отмечала нормализацию режима сна и бодрствования, тремор уменьшился.

При обследовании:

В общем анализе крови: гемоглобин – 141 г/л, эритроциты – $6,12 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $4,8 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 110×10^9 /л, СОЭ – 7 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 141 ммоль/л; калий – 4,5 ммоль/л; аланиновая аминотрансфераза – 31 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 34 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 48 ед/л; щелочная фосфатаза – 251 ед/л; общий белок – 64,1 г/л; альбумин – 43,1 г/л; глюкоза – 5,1 мг/л; креатинин – 84,12 мкмоль/л; билирубин общий – 13,4 мкмоль/л; прямой билирубин – 5,7 мкмоль/л; С-реактивный белок: 2 мг/л.

В коагулограмме: процент протромбина по Квику – 63%; активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,01; МНО – 1,25; Протромбиновое время – 16,4 сек; Тромбиновое время – 23,1 сек; Фибриноген – 2,93 г/л.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости: жидкость в брюшной полости не определяется. Размеры печени: левая доля 69×126 мм (норма до 60×100), правая доля 88×128 мм (норма до 125×145), контуры неровные, мелкобугристые, паренхима повышенной эхогенности, уплотнена и с кальцинатами по портальным трактам. Портальная вена: диаметр расширен, 15–16

мм (норма до 13 мм). Поджелудочная железа 26–17–26 мм, контуры ровные, паренхима пониженной эхогенности. Вирсунгов проток не расширен. Селезенка: размеры значительно увеличены, 238×65 мм; эхоструктура обычная. Желчный пузырь: размер увеличен, 125×40×35 мм. Форма изменена, перегиб на границе тела и шейки. Толщина стенки неравномерная, увеличена до 2–3 мм. Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура однородная. Содержимое неоднородное в просвете лоцируется не менее 2 конкрементов размером 23 мм и 17 мм.

Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена.

По данным ЭГДС – без существенной динамики

Анализ мочи без особенностей.

Анализ структурных и функциональных свойств альбумина методом ЭПР-спектроскопии: DR – 1,45; BE – 77,13%; RTQ – 75,21%; DTE – 54,15%.

Таким образом, у пациентки О., страдающей ЦП в исходе вирусного гепатита С, обратившейся с жалобами на тяжесть в правом подреберье, общую слабость, утомляемость, увеличение в размерах живота, отеки ног, дневную сонливость, тремор рук, при обследовании было выявлено нарушение структурных и функциональных свойств сывороточного альбумина.

На фоне курса заместительной терапии альбумином была зафиксирована положительная динамика: асцит не определялся, нормализовался сон и общее самочувствие. Кроме того, на фоне лечения снижались лабораторные маркеры воспаления (СОЭ и СРБ); увеличилось общее содержание альбумина в сыворотке крови, нормализовались показатели гемостаза, а также восстановились до нормы показатели нативной конформации альбумина, связывающей и транспортной функций.

Через три месяца после окончания трансфузионной терапии – асцит не определялся. Летальное событие в конечной оцениваемой точке – 24 месяца наблюдения – не наступило.

Таким образом, данное наблюдение подтвердило, что у пациентов с декомпенсированным ЦП отмечаются изменение нативной конформации

молекулы и ее функции, несмотря на нормальный уровень альбумина. Данные изменения имеют способность восстанавливаться, что сопровождается клиническим и лабораторно-инструментальным улучшением.

3.5.2 Клиническое наблюдение 2

Пациентка М., 43 лет, поступила в отделение гепатологии с циррозом печени алкогольной этиологии. Предъявляла жалобы на увеличение в размерах живота, отеки ног, заторможенность, выраженную слабость, сонливость, онемение кожи ног, кровоточивость десен, желтушность кожных покровов, тремор кистей рук.

Из анамнеза известно, что пациентка принимала алкоголь в гепатотоксических дозах на протяжении 6 месяцев. В 2020 г. по месту жительства обратилась за медицинской помощью, где был установлен диагноз: Токсический гепатит с трансформацией в цирроз. Проводилась антидиуретическая терапия антагонистами альдостерона, адеметионином, витаминами группы В, невсасываемыми антибиотиками, L-орнитин-L-аспаратом. Однократно был выполнен лапароцентез с удалением 4 л асцитической жидкости, трансфузии альбумина не проводились. Однако на фоне проводимой терапии отмечалось нарастание астении, отечно-асцитического синдрома, прогрессирование полинейропатии.

Объективно: состояние средней тяжести. Сознание ясное. Заторможена, сонлива, на вопросы отвечает с задержкой. Рост 162 см, вес 57 кг. Температура тела 36,6 градусов. Кожа: желтушной окраски, телеангиоэктазии. Видимые слизистые: иктеричные. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 19 в мин. SatO₂– 99%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, ЧСС – 82 в мин. АД 110 и 70 мм рт. ст. Живот увеличен за счет напряженного асцита. Пальпация внутренних органов затруднена за счет асцита. Отеки голеней и стоп. Симптом

поколачивания отрицательный с обеих сторон. Стул регулярный, без патологических примесей. Мочеиспускание не нарушено.

На основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного осмотра, пациентке был установлен предварительный диагноз: Цирроз печени токсической этиологии, класс С по Child – Pugh. Портальная гипертензия: напряженный асцит III степени (IAC), спленомегалия. Пациенткой было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

При обследовании:

В общем анализе крови: гемоглобин – 117 г/л, эритроциты – $3,45 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $8,2 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 139×10^9 /л, СОЭ – 4 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 139 ммоль/л; калий – 4,1 ммоль/л, аланиновая аминотрансфераза – 83 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 125 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 175 ед/л; щелочная фосфатаза – 346 ед/л; общий белок – 59,5 г/л; альбумин – 35 г/л; глюкоза – 5,2 мг/л; креатинин – 47,29 мкмоль/л; билирубин общий – 245,8 мкмоль/л; прямой билирубин – 116 мкмоль/л; С-реактивный белок: 12 мг/л.

В коагулограмме: процент протромбина по Квику – 47%; активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,34; МНО – 1,91; Протромбиновое время – 21,3 сек; Тромбиновое время – 29,1 сек; Фибриноген – 1,24 г/л; Уровень онкомаркеров в норме.

Анализ мочи без особенностей.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости: Контуры печени четкие, неровные, крупнобугристые. Размер печени увеличен: левая доля 59×90 мм (норма до 60×100), правая доля 96×171 мм (норма до 125×145), паренхима повышенной эхогенности. Портальная вена: диаметр, 14 мм (норма до 13 мм). Селезеночная вена: диаметр увеличен до 10 мм (норма до 8 мм). Поджелудочная железа: контуры ровные, четкие. Размер не изменен. Эхоструктура диффузно неоднородна. Главный панкреатический проток не расширен. Селезенка: размеры увеличены, 154×47 мм; эхоструктура не изменена. Желчный пузырь: крупный 98×33 мм. Форма изменена, перегиб на границе тела и

шейки. Толщина стенки увеличена до 3–4 мм. Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура однородная. Содержимое однородное. Гепатикохоледох не расширен.

Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена. Свободная жидкость в брюшной полости определяется, значительное количество: вокруг печени толщиной до 25 мм, по латеральным каналам толщиной 70–80 мм, вокруг селезенки до 20 мм, в полости малого объемом около 1500 см³.

При ЭГДС: слизистая пищевода светло-розового цвета. Начиная со средне-грудного отдела пищевода, в дистальном направлении обнаружены не извитые, без узлов, едва заметные вены светло-голубого цвета диаметром до 0,2 см, спадающиеся при инсуффляции СО².

ЭКГ: Ритм синусовый, ЧСС 90 ударов в минуту. Отклонение ЭОС влево.

Пациентке дважды был проведен лечебно-диагностический лапароцентез, эвакуировано около 8000 мл асцитической жидкости желтого цвета, с последующим восполнение ОЦК раствором альбумина.

Анализ структурных и функциональных свойств альбумина методом ЭПР-спектроскопии: DR: -2,48, VE: 24,32%, RTQ: 25,13%, DTE: 16,82%.

Клинический диагноз:

Основной диагноз: Цирроз печени токсической этиологии, класс С по Чайлд – Пью (12 баллов). Портальная гипертензия: асцит III (по IAC), спленомегалия, ВРВП 0–1-я ст.

Осложнения: Печеночная недостаточность: гипербилирубинемия, гипокоагуляция, желтуха. Печеночная энцефалопатия 1-я ст. Токсическая полинейропатия.

Таким образом, у пациентки с декомпенсированным алкогольным циррозом печени, осложненным напряженным асцитом, ПЭ, гипербилирубинемией, на фоне нормального уровня сывороточного альбумина были обнаружены существенные отклонения в показателях нативной конфигурации (DR), связывающей, транспортной и детоксикационной функциях. Как было показано в

данном исследовании, величина нативной конформации является отражением и тяжести ЦП, и выраженности асцита.

Методом случайной рандомизации пациентка была распределена в группу СМТ + Альбумин. Наряду с базисной терапией (диуретики, адеметионин, лактулоза, L-орнитин-L-аспартат, витамины группы В), пациентке была назначена заместительная терапия 20%-м раствором альбумина – 200 мл в неделю.

Динамика на фоне лечения через три месяца:

На фоне лечения отмечалось уменьшение слабости, утомляемости. Отеков нижних конечностей не отмечалось. Окружность талии уменьшилась за счет уменьшения выраженности асцита. Пациентка отмечала нормализацию режима сна и бодрствования, тремор рук уменьшился. Желтушность кожных покровов и явления полинейропатии сохранялись, но в меньшей степени.

При обследовании через 3 месяца терапии:

Объективно: состояние средней тяжести. Сознание ясное. Ориентирована во времени, пространстве и собственной личности. Рост 162 см, вес 48 кг. ИМТ 18,29 кг/м². Температура тела 36,6 градусов. Кожа: желтушной окраски, телеангиоэктазии. Видимые слизистые: субиктеричные. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧДД – 19 в мин. SatO₂ – 99%. Тоны сердца: ясные, ритмичные, ЧСС – 72 в мин. АД 115 и 65 мм рт. ст. Живот мягкий, умеренно болезненный в правом подреберье. Печень увеличена на два сантиметра по среднеключичной линии. Отеков нет. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Стул и диурез без особенностей.

В общем анализе крови: гемоглобин – 113 г/л, эритроциты – $3,20 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $8,2 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 121×10^9 /л, СОЭ – 10 мм/ч.

В биохимическом анализе крови: натрий – 141 ммоль/л; калий – 5,1 ммоль/л, аланиновая аминотрансфераза – 41 ед/л; аспарагиновая аминотрансфераза – 68 ед/л; гаммаглутамилтранспептидаза – 65 ед/л; щелочная фосфатаза – 306 ед/л; общий белок – 63 г/л; альбумин – 37 г/л; глюкоза – 5,2 мг/л;

креатинин – 47,29 мкмоль/л; билирубин общий – 86,9 мкмоль/л; прямой билирубин – 35,8 мкмоль/л; С-реактивный белок: 4 мг/л.

В биохимическом анализе крови отмечается положительная динамика: снижение уровня печеночных трансаминаз, ГГТ, щелочной фосфатазы, уровня билирубина. Уровень альбумина в пределах нормальных значений.

Анализ мочи и кала без особенностей.

В коагулограмме: процент протромбина по Квику – 48%; активированное частичное тромбопластиновое время, отношение – 1,16; МНО – 1,59; Протромбиновое время – 17,7 сек; Тромбиновое время – 35,4 сек; Фибриноген – 1,3 г/л.

В анализах свертываемости крови отмечается нормализация АЧТВ отношения с 1,34 до 1,16, снижение МНО с 1,91 до 1,59, протромбинового времени с 21,3 до 17,7 сек.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости: Контуры печени четкие, неровные, минимально волнистые. Размер печени увеличен: левая доля 60×110 мм (норма до 60×100), правая доля 100×160 мм (норма до 125×145), паренхима повышенной эхогенности. Портальная вена: диаметр, 13,1 мм (норма до 13 мм). Селезеночная вена: диаметр увеличен до 8–9 мм (норма до 8 мм) Поджелудочная железа: контуры ровные, четкие. Размер не изменен. Эхоструктура диффузно неоднородна. Главный панкреатический проток не расширен. Селезенка: размеры увеличены, 154×47 мм; эхоструктура не изменена. Желчный пузырь: крупный 98×33 мм. Форма изменена, перегиб на границе тела и шейки. Толщина стенки увеличена до 3–4 мм. Эхогенность стенки повышенная, эхоструктура однородная. Содержимое однородное. Гепатикохоледох не расширен. Почки расположены обычно, нормальных размеров, паренхима сохранена, чашечно-лоханочная система не расширена. Свободная жидкость в брюшной полости определяется незначительно: по висцеральной поверхности правой доли печени и селезенки толщиной до 5 мм, в полости малого таза около 100 мл.

По данным УЗИ отмечается положительная динамика: уменьшение диаметра портальной вены с 14 до 13,1 мм, селезеночной вены с 10 до 8–9 мм. Определяется незначительное количество свободной жидкости – около 100 см³ по сравнению с 1500 см³ до лечения.

При проведении ЭГДС – без существенной динамики.

Анализ структурных и функциональных свойств альбумина методом ЭПР-спектроскопии: DR: -0,74, BE: 44,64%, RTQ: 45,59%, DTE: 30,88%.

В течении последующих 3 месяцев нарастания асцита у пациентки не наблюдалось, однако отмечалось усугубление гипербилирубинемии. Пациентка находилась в листе ожидания на трансплантацию печени. Спустя 14 месяцев с момента включения в исследование, была успешно выполнена трансплантация печени.

В данном клиническом случае пациентке с декомпенсированным ЦП, асцитом и нормальным уровнем альбумина сыворотки крови проводилась трансфузионная терапия высококонцентрированным раствором альбумина на протяжении трех месяцев. Несмотря на референсные значения альбумина пациентки, с помощью метода ЭПР-спектроскопии определялись его структурные и функциональные отклонения. Пролонгированный курс заместительной терапии альбумином совместно с базисным лечением позволил не только не допустить усугубления течения заболевания, но, напротив, способствовал его стабилизации. Было отмечено снижение суммы баллов по шкале тяжести ЦП Чайлд – Пью с 12 до 7. Клинически наблюдалось улучшение самочувствия, уменьшение интенсивности исходных жалоб. Проявления энцефалопатии уменьшались. В биохимическом анализе крови отмечалась положительная динамика: снижение уровня печеночных трансаминаз, ГГТ, щелочной фосфатазы, уровня билирубина. Уровень альбумина сохранялся в пределах нормальных интервалов. Улучшились показатели системы гемостаза.

Наряду с этим, показатель нативной конформации (DR) увеличился вдвое: с -2,48 до -0,74; функции альбумина также улучшались: показатель связывающей способности (BE) повысился с 24,32% до 44,64%; транспортной (RTQ) и

детоксикационной (DTE) функций: с 25,13% до 45,59% и с 16,82% до 30,88% соответственно.

В то же время, в группе пациентов, получающих только стандартную терапию, данные показатели либо не изменялись, либо имели тенденцию к ухудшению, как и клиническое течение.

У данной пациентки показатели нативности конформации альбумина и его функций не достигли нормальных значений при их видимом значительном росте. По нашему мнению, это связано с тяжестью заболевания, глубиной системного воспаления. По-видимому, для данной больной трехмесячный курс оказался недостаточным, хотя и привел к положительному ответу на лечение.

Исследование показателей альбумина в дальнейшем может помочь при выборе персонализированной тактики лечения и решении вопроса о длительности заместительной терапии альбумином.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе исследования обнаружено, что у больных ЦП показатели альбумина, такие как нативность молекулы (DR), связывающая эффективность (BE), транспортная активность (RTQ) и детоксикационная эффективность (DTE) были достоверно снижены по сравнению группой здоровых добровольцев [4, 34, 38, 53]. Наименьшие значения показателя нативной конформации альбумина (DR) регистрировались в группе ЦП класса С. Медиана DR в данной группе составляла -2,42 ($p < 0,001$), в группе ЦП В – -0,88 ($p < 0,001$), а у здоровых лиц – 3,51. Подобная картина согласуется с данными других работ [48, 102], где подтверждается, что нативность конформации альбумина меняется по мере прогрессирования заболевания. По нашему мнению, данная находка объясняется альтерацией молекулярной структуры альбумина под воздействием оксидативного стресса и системного воспаления на фоне ЦП, а также снижением белково-синтетической функции гепатоцитов.

В ряде немногочисленных работ, приведены сведения о нарушениях молекулярной структуры альбумина, исследованной методом ЭПР, при онкологических заболеваниях. В частности, при раке яичника показатель DR снижался относительно группы здоровых женщин и больных с доброкачественными опухолями яичников. Вместе с тем, медиана показателя DR при раке яичника составляла 0,771, что существенно выше значений, полученных нами у пациентов с ЦП [19].

Связывающая способность альбумина была достоверно ниже у пациентов с ЦП по сравнению с группой здоровых лиц. Учитывая наличие сайтов связывания для билирубина, недостаточная связывающая и транспортная функции патологически измененной молекулы альбумина вероятно вносят свой вклад в наличие у пациентов гипербилирубинемии и желтушного синдрома.

Мы зарегистрировали снижение показателей транспортной и детоксикационной активности альбумина у декомпенсированных пациентов с

циррозом [35]. Наименьшая транспортная способность наблюдалась в группе ЦП С ($27,21 \pm 9,76$). У пациентов ЦП В класса транспортная активность находилась в пределах $49,60 \pm 13,92$.

В литературе встречаются данные о том, что при гестозе легкой и средней степени тяжести снижались показатели транспортной (40–47%) и детоксикационной функции альбумина (22–30%). Однако данное исследование основано на малочисленной группе обследованных, и не учитывало другие показатели альбумина, такие как DR и BE [27].

В литературе имеются данные, описывающие снижение параметра детоксикационной способности альбумина при гнойно-септических осложнениях до 0,6–17% [9]. Наши результаты указывают на то, что показатель DTE у пациентов с декомпенсированным ЦП был несколько выше, его медиана составила 24,84%. При этом в ходе анализа полученных данных, было показано, что показатель детоксикационной способности альбумина ниже в группе ЦП С класса, по сравнению с классом В. Данная динамика выраженного ухудшения показателя DTE четко отражает тяжесть процессов системной интоксикации у больных с декомпенсированным циррозом печени.

На сегодняшний день мы не располагаем достаточными данными о структурных и функциональных изменениях параметров альбумина при различных заболеваниях, в том числе, при ЦП. Дальнейшие исследования показателей альбумина, возможно, позволят сформировать новые лечебно-диагностические подходы на ранних сроках заболевания.

Проведенный корреляционный анализ уровня альбумина и его показателей с баллами по шкале Чайлд – Пью, клиническими и лабораторно-инструментальными показателями при ЦП показал, что исследуемые свойства альбумина имеют тесную обратную корреляционную зависимость с баллами по шкале Чайлд – Пью. Наиболее тесная связь отмечается у показателя нативности DR ($\rho = -0,809$), $p < 0,001$, тогда как показатель уровня сывороточного альбумина имеет обратную зависимость меньшей силы ($\rho = -0,550$), $p < 0,001$. Обращает на себя внимание, что в выбранной когорте пациентов с наличием асцита, уровень

альбумина был снижен менее, чем у половины пациентов – 48% (n = 24); а наличие патологической конформации молекулы альбумина наблюдалось у 100% больных. При этом, медиана показателя нативности снижается по мере увеличения тяжести асцита. Указанные различия статистически значимы, достоверны ($p < 0,05$) и не зависят от уровня альбумина в сыворотке крови. По полученным в этом исследовании данным, степень изменения структурных свойств альбумина более значимо коррелирует с тяжестью ЦП и его осложнениями, такими как асцит, нежели с его общей концентрацией в плазме крови. Эти результаты позволяют по-новому взглянуть на значимость структурных свойств альбумина в патогенезе ЦП и сформулировать клинически значимые показания к назначению заместительной терапии альбумином.

Среди пациентов с наличием ПЭ показатель нативной конформации также достоверно и значимо снижен, по сравнению с группой пациентов без нее. Связывающая, транспортная и детоксикационная функции альбумина также достоверно и значимо снижались у пациентов с желтушным синдромом и ПЭ. Данные находки отчасти объясняются неспособностью дефектного альбумина связывать и транспортировать молекулу билирубина, а наличие энцефалопатии – нарушением регуляции кровообращения в головном мозге и недостаточной нейротекторной функцией патологического альбумина. Предполагается, что она обеспечивается антиоксидантными свойствами молекулы [102].

В группе «СМТ + Альбумин» отмечалось снижение доли пациентов с явной ПЭ с 15,2% до 3% ($p = 0,025$), в то время как в группе «СМТ» данный показатель снижался менее значимо – с 35,7% до 14,3% ($p = 0,180$). Это согласуется с тенденцией к компенсации ЦП в группе «СМТ + Альбумин», а также согласуется с результатами рандомизированного клинического исследования, в котором комбинация лактулозы и альбумина показала большую эффективность в лечении явных форм ПЭ, чем только лактулоза [107].

Примечательно, что заместительная терапия альбумином на протяжении 3 месяцев лечения приводила не только к увеличению среднего уровня альбумина в группе «СМТ + Альбумин» с 31,75 г/л до 40,06 г/л ($p < 0,001$), но и улучшению

показателей нативной конформации альбумина с $-2,07$ до $0,42$ ($p < 0,001$), связывающей способности с $37,62\%$ до $71,98\%$ ($p < 0,001$), транспортной активности с $40,16\%$ до $61,88\%$ ($p < 0,001$) и детоксикационной способности с 25% до $58,62\%$ ($p < 0,001$). Данные сдвиги сопровождались снижением суммы баллов по шкале Чайлд – Пью с 9 до 7 и компенсацией заболевания у $39,4\%$ пациентов из группы заместительной терапии альбумином ($p < 0,001$). Следует отметить, что среди пациентов группы «СМТ» компенсации заболевания достичь не удалось. Актуальные исследования, оценивающие динамику изменений показателей альбумина и их связь с клиническим течением у данной когорты пациентов, на фоне заместительной терапии альбумином в течении 3 месяцев, в мировой литературе, на момент написания данной работы не представлены.

Так же обнаружено, что в группе «СМТ + Альбумин» регрессии асцита достигли 48% пациентов, в то время как в группе «СМТ» – $7,1\%$. При этом, среднее значение уровня альбумина превышало 40 г/л и составляло $42,11 \pm 7,04$ г/л. Ряд авторов полагает, что наилучшие результаты лечения достигаются при значении альбумина 40 г/л [101]. Наша рекомендация – расширить это значение до 42 г/л.

Пациенты, достигшие стойкой регрессии асцита (на протяжении последующих 3 месяцев после окончания терапии) имели показатель DR, равный $1,05$, а показатели связывающей, транспортной и детоксикационной активности – $73,51\%$, $75,10\%$ и $72,71\%$, соответственно.

Таким образом, учитывая наличие патологической конформации молекулы альбумина и снижение его функциональных свойств у пациентов с декомпенсированным ЦП, доказанной возможности улучшить, а в ряде случаев, и достичь его нормальных функциональных параметров, сопровождающихся улучшением клинического течения заболевания (регрессия асцита, компенсация заболевания) в определении показаний к заместительной терапии альбумином целесообразно ориентироваться не только и не столько на его общую концентрацию в плазме крови, но и на его структурно-функциональные свойства [4, 36, 53]. Исходя из вышеизложенного, инициировать заместительную терапию

альбумином следует всем пациентам с декомпенсированным ЦП с наличием асцита, даже при нормальном уровне альбумина в сыворотке крови. Достижение уровня сывороточного альбумина выше 42 г/л и показателя нативной конформации выше 1,05 и улучшение функциональной активности исследуемых параметров выше 73,51% (BE), 75,10% (RTQ) и 72,71% (DTE), при клиническом улучшении, – служат целевыми значениями для перерыва в заместительной терапии.

В ходе исследования было доказано, что заместительная терапия альбумином улучшает показатели выживаемости, по сравнению с базисной терапией. Показано, что независимым фактором риска летальности выступает уровень сывороточного альбумина. Значение альбумина ниже 34,4 г/л служило риском летального исхода. Увеличение уровня сывороточного альбумина на 1 г/л уменьшало риск летального исхода в 1,4 раза. Полученные данные перекликаются с результатами ретроспективного анализа исследования ANSWER, где было показано, что значение альбумина в диапазоне 25–45 г/л определяло выживаемость пациентов. Оптимальным целевым порогом альбумина, улучшающим прогноз, авторы считают 40 г/л [93, 101].

Вместе с тем, функциональные характеристики альбумина имели более высокую чувствительность и специфичности в оценке риска летального исхода, чем уровень альбумина сыворотки крови. Пороговое значение показателя нативной конформации, при котором прогнозировался летальный исход был ниже -0,42, показателей BE – 62%, RTQ – 57%, DTE – 36,51%. Мы пришли к выводу о необходимости не только восполнять дефицит альбумина, но и контролировать его структурно-функциональную полноценность.

Выявлено существенное влияние заместительной терапии альбумином на выживаемость пациентов с декомпенсированным ЦП. Так, среди пациентов заместительной терапии выживших было 80,6%, в то время как в группе базисной терапии – 46,7% ($p = 0,038$). Полученные данные отчасти согласуются с результатами исследования ANSWER [93]. По всей видимости, это связано не только с компенсацией онкотической емкости альбумина, но и с восстановлением

структурно-функциональных показателей молекулы, что способствует снижению выраженности асцита и системной воспалительной реакции.

При анализе уровня альбумина у выживших больных его среднее значение составило $39,78 \pm 6,60$ г/л.

Важным результатом работы послужило открытие факта, что у пациентов с декомпенсированным ЦП и асцитом, независимо от уровня альбумина в сыворотке крови, в 100% случаев имеют место патологические изменения молекулы альбумина, ведущие к нарушению его физиологических функций. Данные изменения коррелируют со степенью тяжести ЦП. Заместительная терапия альбумином на протяжении 3 месяцев способствует компенсации заболевания, регрессии асцита и уменьшению выраженности ПЭ. Отдаленные результаты также свидетельствуют о благоприятном воздействии заместительной терапии альбумином на выживаемость включенных в лист ожидания на трансплантацию печени.

ВЫВОДЫ

1. У всех пациентов с декомпенсированным циррозом печени и асцитом имеются нарушения качественных характеристик альбумина, выраженность которых коррелирует с тяжестью цирроза. Медиана показателя нативной конформации (DR) составляет -0,88 (ЦП В) и -2,42 (ЦП С), ($p < 0,001$); медиана связывающей активности (BE) в группе ЦП В равняется 45,00%, в группе ЦП С класса – 24,60% ($p < 0,001$); среднее значение транспортной способности (RTQ) в группе ЦП В составляет 49,60%, в группе ЦП С – 27,21%, ($p < 0,001$); детоксикационная способность (DTE) у больных ЦП В – 38,89%, в группе ЦП С – 12,32% ($p < 0,001$). Показатели корреляции (ρ) DR, BE, RTQ, DTE с баллами по шкале Чайлд –Пью составляют -0,80, -0,75, -0,76, -0,73, соответственно ($p < 0,001$).

2. Существует выраженная взаимосвязь между:

а) уровнем сывороточного альбумина и отсутствием варикозного расширения вен пищевода и желудка. Среднее значения уровня альбумина, при котором не наблюдается варикозно расширенных вен пищевода и желудка составляет 38,56 г/л ($p = 0,048$), более низкие значения – ассоциируются с их наличием;

б) изменением качественных характеристик альбумина и клиническими проявлениями декомпенсированного цирроза печени: показатель нативной конформации (DR) уменьшается по мере прогрессирования асцита (IAC I – -1,69, IAC II – -2,28, IAC III – -2,42, ($p = 0,016$)); Наличие печеночной энцефалопатии ассоциируется со значениями DR ниже, чем при ее отсутствии (-2,36 против -1,68; $p = 0,002$). Более низкие значения связывающей способности альбумина (BE), транспортной (RTQ) и детоксикационной функций (DTE) ассоциированы с наличием печеночной энцефалопатии и желтухи ($p < 0,05$).

3. Структурная и функциональная неполноценность альбумина служит показанием к началу заместительной терапии альбумином, даже при нормальных значениях его сывороточной концентрации. Патологические изменения нативной

конформации наблюдаются у 100% больных декомпенсированным циррозом печени и не связаны с явлением гипоальбуминемии; снижение функциональной активности альбумина также не зависит от уровня альбумина в сыворотке крови ($p > 0,05$).

4. Трехмесячный курс заместительной терапии человеческим альбумином способствует компенсации течения цирроза печени в 39,4% случаев против 0% в группе стандартного лечения ($p < 0,001$), регрессии асцита у 48,4% больных, по сравнению с 7,1% пациентов группы стандартной терапии ($p < 0,05$); снижению доли пациентов с явной печеночной энцефалопатией с 15,2% до 3% ($p = 0,025$). В группе заместительной терапии улучшаются показатели лабораторных тестов: повышается уровень сывороточного альбумина, снижаются маркеры воспаления (СОЭ, СРБ), показатель МНО имеет тенденцию к нормализации, уровень натрия в крови сохраняется в пределах нормальных значений ($p < 0,05$). Исходно нарушенные показатели нативной конформации (у 100% больных) и функций альбумина имеют тенденцию к восстановлению физиологических функций: нативная конформация (DR) нормализуется в 42,4% случаев ($p < 0,001$), доля пациентов с нормальной связывающей способностью (BE) возрастает с 9,1% до 60,6% ($p < 0,001$), транспортной активностью (RTQ) с 18,2% до 63,6% ($p < 0,001$) и детоксикационной активностью с 27,3% до 60,6% ($p = 0,002$).

5. Целевые значения, при которых прекращение заместительной терапии сопровождается разрешением асцита, составляют: для общей концентрации альбумина – 42 г/л; для показателя нативной конформации альбумина – выше 1,05; связывающей способности – не менее 73,51%, транспортной и детоксикационной активности – более 75,10% и 72,71%, соответственно ($p < 0,05$).

6. Заместительная терапия высококонцентрированным альбумином оказывает значимое положительное влияние на выживаемость пациентов с декомпенсированным циррозом печени и асцитом в течение 24 месяцев в 80,6% случаев, по сравнению с группой пациентов, получающих стандартную терапию (46,7%), $p = 0,038$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные позволили сформировать нижеследующие рекомендации:

1. В комплексном обследовании пациентов с декомпенсированным ЦП необходимо учитывать показатели нативной конформации альбумина, его связывающей, транспортной и детоксикационной активности.

2. Необходимо инициировать заместительную терапию раствором высококонцентрированного человеческого альбумина (20%-й раствор альбумина человека – 200 мл в неделю) всем пациентам в стадии декомпенсации ЦП и асцитом, при обнаружении структурных и функциональных нарушений альбумина, не зависимо от уровня альбумина в сыворотке крови.

3. Критериями успешной терапии и возможности прекращения трансфузий альбумина служат: его сывороточный уровень не менее 42 г/л; показатель нативной конформации $> 1,05$; связывающая способность не менее 73,51%; транспортная и детоксикационная активности более 75,10% и 72,71%, соответственно.

4. Дальнейшая тактика ведения пациентов должна основываться на динамическом контроле за развитием клинических и лабораторно-инструментальных изменений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ВРВП – варикозное расширение вен пищевода

ГРС – гепаторенальный синдром

ИЛ – интерлейкин

МНО – международное нормализованное отношение

ПГ – простагландин

ПИ – протромбиновый индекс

ПЭ – печеночная энцефалопатия

СБП – спонтанный бактериальный перитонит

СД – сахарный диабет

СМТ – стандартная медикаментозная терапия

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФНО – фактор некроза опухоли

ЦП – цирроз печени

ЧА – человеческий альбумин

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

ЭПР-спектроскопия – спектроскопия электронного парамагнитного резонанса

AASLD – Американская ассоциация по изучению заболеваний печени

ACLF – обострение хронической печеночной недостаточности

Alb – молекула альбумина

BE – связывающая эффективность

Cys – остаток цистеина

DR – нативная конформация альбумина

DTE – детоксикационная способность

EASL – Европейская ассоциация по изучению печени

FcRn – pH-зависимый рецептор неонатального кристаллизующегося фрагмента

HbA1c – гликозилированный гемоглобин

HNA – немеркапталбумин человека

IAC – Международный Клуб по изучению асцита

p – достоверность различий

RTQ – транспортная эффективность

TIPS – трансъюгулярный внутрипеченочный портосистемный шунт

ρ – коэффициент корреляции Спирмена

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альтшулер, С. А. Электронный парамагнитный резонанс / С. А. Альтшулер, Б. М. Козырев. – М. : Физматиз, 1961.
2. Анализ номинальных данных. URL: <https://medstatistic.ru/chapter2.html>.
3. Билецкая, В. А. Оценка отдаленных результатов дренажной хирургии неоваскулярной глаукомы у пациентов с сахарным диабетом : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.07 / Билецкая Валерия Александровна ; науч. рук. Д.В. Липатов; ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» – Москва, 2022. – 108 с.
4. Влияние пролонгированной заместительной терапии альбумином на структурно-функциональные характеристики сывороточного альбумина и контроль асцита / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин // Материалы конференции XXVII международный конгресс «Гепатология сегодня». Сборник тезисов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2023. – Приложение № 61. – С. 35.
5. Влияние структурно-функциональных нарушений альбумина на качество жизни пациентов с декомпенсированным циррозом печени / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин. – DOI /10.21518/ms2023-130. // Медицинский совет. – 2023. – № 8 (17). – Р. 113–118.
6. Возможности математического моделирования риска развития атеросклероза в популяции лиц возраста 30–49 лет славянской и корейской этнической принадлежности / Д. Ю. Богданов, В. А. Невзорова, К. И. Шахгельдян, М. В. Мокшина // Системные гипертензии. – 2022. – № 2 (19). – С. 27–32.
7. Возрастные и половые различия у пациентов с акромегалией и их влияние на отдаленные результаты хирургического лечения / В. Ю. Черebilло, Р. В. Плетнев, А. С. Шатилова [и др.] // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2022. – № 8. – С. 603–614.
8. Грызунов, Ю. А. Свойства связывающих центров альбумина: метод исследования в биологических жидкостях и опыт его применения для оценки

состояния организма : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.02 / Грызунов Юрий Анатольевич ; Науч.-исслед. ин-т физико-хим. медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2003. – 181 с.

9. Диагностика и мониторинг развития гнойно-септических осложнений в раннем послеоперационном периоде у онкологических больных с помощью ЭПР-метода / Т. В. Давыдова, И. И. Матвеева, А. В. Сытов [и др.] // International Journal of Applied and Fundamental Research. – 2011. – № 5. – С. 94–95.

10. Долгов, О. И. Тактика ведения пациентов с оториноларингологической патологией на этапах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток : дис. ... д-ра мед. наук : 3.1.3; 3.1.28 / Долгов Олег Игоревич ; науч. рук. С. А. Карпищенко, И. С. Моисеев; ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Санкт-Петербург, 2022. – 300 с.

11. Дрига, А. А. Механизмы артериальной гипотензии при циррозе печени : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / Дрига Анастасия Александровна ; науч. рук. В.Т. Ивашкин; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2018. – 150 с.

12. Жаркова, М. С. Бактериальная транслокация в патогенезе инфекционных осложнений у больных циррозом печени : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / Жаркова Мария Сергеевна ; науч. рук. В.Т. Ивашкин ; ГОУВПО «Московская медицинская академия». – Москва, 2012. – 124 с.

13. Исаев, А. А. Фундаментальные и прикладные проблемы здоровьесбережения человека на Севере / А. А. Исаев // Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции (10 декабря 2021 г.). – Сургут : Сургутский государственный университет, 2022. – С. 259.

14. Канцуров, Р. Н. Обоснование алгоритма хирургического лечения больных с осложненной внутripеченочной портальной гипертензией : дис. ... канд. мед. наук : 3.1.9 / Канцуров Роман Николаевич ; науч. рук. Н. Г. Сапронова ; ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Ростов-на-Дону, 2022. – 148 с.

15. Киртбая, А. Р. Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению перинатальных поражений головного мозга у новорожденных детей в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии : дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.08 / Киртбая Анна Ревазиевна ; науч. рук. Д. Н. Дегтярев ; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2022. – 184 с.

16. Клигуненко, Е. Н. Человеческий сывороточный альбумин (прошлое и будущее) / Е. Н. Клигуненко, О. А. Зозуля. – DOI 10.22141/2224-0586.5.84.2017.109356 // Медицина неотложных состояний. – 2017. – № 5 (84).

17. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, Ч. С. Павлов [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – № 4 (26).

18. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению фиброза и цирроза печени и их осложнений / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, М. С. Жаркова [и др.]. – DOI 10.22416/1382-4376-2021-31-6-56-102 // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2021. – № 6 (31). – Р. 56–102.

19. Клиническое и диагностическое значение функциональных и конформационных свойств альбумина сыворотки крови у больных раком яичников (пилотное исследование) / Т. В. Давыдова, И. И. Матвеева, А. Н. Грицай [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2014. – № 2. – С. 59–61.

20. Корреляционный анализ. – URL: <https://medstatistic.ru/chapter2.htm>.

21. Лотош, Н. Ю. Гликирование альбумина *in vitro* при нормальной и повышенной концентрации глюкозы / Н. Ю. Лотош, С. В. Савельев, А. А. Селищева // Патогенез. – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 42–46.

22. Луньков, В. Д. Оптимизация прогноза пациента с алкогольной болезнью печени : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / Луньков Валерий Дмитриевич ; науч. рук. М. В. Маевская; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2021. – 136 с.

23. Маевская, М. В. Роль человеческого альбумина в ведении пациентов с циррозом печени / М. В. Маевская, М. С. Жаркова. – DOI 10.21518/2079-701X-2020-5-62-69 // Медицинский Совет. – 2020. – № 5. – Р. 62–69.

24. Масленников, Р. В. Бактериальная транслокация как причина системной воспалительной реакции при циррозе печени : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / Масленников Роман Вячеславович ; науч. рук. Ч. С. Павлов ; Первый моск. гос. мед. ун-т. им. И.М. Сеченова. – Москва, 2018. – 133 с.

25. Межонов, Е. М. Острое почечное повреждение у больных острым коронарным синдромом в условиях инвазивного лечения : дис. ... д-ра мед. наук : 3.1.20 / Межонов Евгений Михайлович ; [Место защиты: ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации]. – Тюмень, 2022. – 390 с.

26. Морозова, М. А. Дифференциальный диагноз лихорадки у больных с диффузными заболеваниями печени : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / Морозова Мария Андреевна ; науч. рук. В. Т. Ивашкин ; Первый моск. гос. мед. ун-т. им. И.М. Сеченова. – Москва, 2012.

27. Нарушение транспортной функции сывороточного альбумина при гестозе беременных / В. Н. Сидоренко [и др.] // Медицинский журнал. – – 2013. – № 1. – С. 149–150.

28. Новожилов, А. И. Электронный парамагнитный резонанс в облученном фенаките / А. И. Новожилов, М. И. Самойлович, А. Н. Карачковская // Журнал структурной химии. – 1970. – Т. 11, № 3. – С. 428–432.

29. Описательная статистика. – URL: <https://medstatistic.ru/chapter2.html>.
30. Особенности строения и функций сывороточного альбумина в норме и у пациентов с циррозом печени (обзор) / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2022. – Т. 32, № 4. – С. 7–16.
31. Пул, Ч. Техника ЭПР-спектроскопии / Ч. Пул. – М. : Мир, 1970.
32. Роль заместительной терапии альбумином в лечении печеночной энцефалопатии у больных циррозом печени / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин. – DOI 10.21518/ms2023-140. // Медицинский совет. – 2023.
33. Самойлов, В. С. Влияние клиничко-демографических факторов и моделей пищевого поведения на эффективность бариатрических вмешательств у пациентов с морбидным ожирением / В. С. Самойлов, А. Н. Редькин, А. В. Степаненко // Московский хирургический журнал. – 2021. – № 2. – С. 62–71.
34. Сравнение количественных данных в независимых группах. – URL: <https://medstatistic.ru/chapter2.html>.
35. Сравнение структурных и функциональных характеристик альбумина у пациентов с циррозом печени с группой здоровых добровольцев. Приложение № 60 / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин // Материалы 28-й объединенной российской гастроэнтерологической недели (Москва, 26–28 сентября 2022 г.) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии – 2022. – № 5 (32). – С. 41, № 144.
36. Структурные и функциональные свойства альбумина у пациентов с циррозом. Приложение № 58 / А. А. Туркина, М. В. Маевская, М. С. Жаркова, В. Т. Ивашкин // Материалы 27-й объединенной российской гастроэнтерологической недели (Москва, 18–20 октября 2021 г.). // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии – 2021. – № 5 (31). – С. 47, № 165.
37. Трунин, Ю. Ю. Стереотаксическое облучение в комплексном лечении пациентов с пилоидными астроцитомами : дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.13;

14.01.18 / Трунин Юрий Юрьевич ; науч. рук. А. Н. Коновалов, А. В. Голанов ; Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко Министерства здравоохранения Российской Федерации. – М., 2021. – 294 с.

38. Факторы, влияющие на отдаленные результаты баллонной ангиопластики изолированных окклюзионных поражений поверхностной бедренной артерии / С. А. Чернядьев, В. А. Погосян, Б. В. Фадин, А. Н. Фоминых. – DOI 10.24022/0236-2791-2023-65-1-79-8 // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2023. – № 1 (65). – С. 79–87.

39. Фролов, П. А. Бронхоэктазы, не связанные с муковисцидозом, у детей: диагностика, предикторы тяжелого течения и терапия : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / Фролов Павел Александрович ; науч. рук. Д. Ю. Овсянников ; ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей». – Москва, 2022. – 184 с.

40. A simple stabilization method of reduced albumin in blood and plasma for the reduced/oxidized albumin ratio measurement / K. Kubota, A. Nakayama, K. Takehana [et al.] // Int. J. Biomed. Sci. – 2009. – № 3 (5). – P. 293–301.

41. Albumin and Ricinus communis agglutinin decrease endothelial permeability via interactions with matrix / R. Qiao, A. Siflinger-Birnboim, H. Lum [et al.]. – DOI 10.1152/ajpcell.1993.265.2.C439 // Am. J. Phys. – 1993. – № 265. – P. C439–C446.

42. Albumin homodimers in patients with cirrhosis: clinical and prognostic relevance of a novel identified structural alteration of the molecule / M. Baldassarre, M. Domenicali, M. Naldi [et al.]. – DOI 10.1038/srep35987 // Sci. Rep. – 2016. – № 6. – P. 35987.

43. Albumin improves the response to diuretics in patients with cirrhosis and ascites: results of a randomized, controlled trial / P. Gentilini, V. Casini-Raggi, G. Di Fiore [et al.] // J. Hepatol. – 1999. – № 30. – P. 639–645.

44. Albumin in decompensated cirrhosis: new concepts and perspectives / M. Bernardi, P. Angeli, J. Claria [et al.]. – DOI 10.1136/gutjnl-2019-318843 // Gut. – 2020. – № 6 (69). – P. 1127–1138.

45. Albumin nanostructures as advanced drug delivery systems / M. Karimia, S. B. Bahramia, S. B. Ravaric [et al.] // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2016. – № 11 (13). – P. 1609–1623.

46. Albumin transport analysis of different collected and processed plasma products by electron spin resonance spectroscopy / G. Matthes, G. Seibt, V. Muravsky [et al.] // *Transfus. Apher. Sci.* – 2002. – Vol. 27. – P. 129–135.

47. Albumin: pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications / R. Garcia-Martinez, P. Caraceni, M. Bernardi [et al.]. – DOI 10.1002/hep.26338 // *Hepatology.* – 2013. – № 58. – P. 1836–1846.

48. Alteration of human serum albumin binding properties induced by modifications: A review / M. Maciążek-Jurczyk, A. Szkudlarek, M. Chudzik [et al.]. – DOI 10.1016/j.saa.2017.05.023 // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2018. – № 188. – P. 675–683.

49. Alterations in the functional capacity of albumin in patients with decompensated cirrhosis is associated with increased mortality / R. Jalan, K., Schnurr R. P. Mookerjee [et al.] // *Hepatology.* – 2009 Aug. – № 2 (50). – P. 555–564.

50. An essential role for albumin in the interaction of endotoxin with lipopolysaccharide-binding protein and sCD14 and resultant cell activation / T. L. Gioannini, D. Zhang, A. Teghanemt, J. P. Weiss. – DOI 10.1074/jbc.M206404200 // *J. Biol. Chem.* – 2002. – № 49 (277). – P. 47818–47825.

51. Analysis of multi-site drug-protein interactions by high-performance affinity chromatography: Binding by glimepiride to normal or glycated human serum albumin / R. Matsuda, Z. Li, X. Zheng, D. S. Hage. – DOI 10.1016/j.chroma.2015.07.012 // *J. Chromatogr. A.* – 2015. – № 1408. – P. 133–144.

52. Bacterial infections in cirrhosis. A position statement based on the EASL Special Conference – 2013 / R. Jalan, J. Fernandez, R. Wiest [et al.] // *J. Hepatol.* – 2014. – № 60. – P. 1310–1324.

53. Beneficial effects of albumin treatment on circulating albumin properties, clinical, laboratory findings and mortality rate in patients with decompensated liver

cirrhosis. / A. Turkina, M. Maevskaya, M. Zharkova, V. T. Ivashkin // *United European Gastroenterology Journal*. – 2022 October. – Vol. 10, iss. 8. – P. 277.

54. Bernardi, M. Novel perspectives in the management of decompensated cirrhosis / M. Bernardi, P. Caraceni. – DOI 10.1038/s41575-018-0045-2 // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – № 12 (15). – P. 753–764.

55. Birkett, D. J. Effects of fatty acids on two specific drug binding sites on human serum albumin / D. J. Birkett, S. P. Myers, G. Sudlow // *Mol. Pharmacol.* – 1977. – № 6 (13). – P. 987–992.

56. Branched-chain amino acids as a protein- and energy-source in liver cirrhosis / H. Moriwaki, Y. Miwa, M. Tajika [et al.]. – DOI 10.1016/j.bbrc.2003.07.016 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. – № 313. – P. 405–409.

57. Clinical features and evolution of bacterial infection-related acute-on-chronic liver failure / F. Wong, S. Piano, V. Singh [et al.] ; International Club of Ascites Global Study Group. – DOI 10.1016/j.jhep.2020.07.046. – PMID: 32781201 // *J. Hepatol.* – 2021 Feb. – № 2 (74). – P. 330–339.

58. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution / S. Sugio, A. Kashima, S. Mochizuki [et al.] – DOI 10.1093/protein/12.6.439 // *Protein Eng.* – 1999. – № 6 (12). – P. 439–446.

59. Crystallographic analysis of human serum albumin complexed with 4Z,15E-bilirubin-IXalpha / P. A. Zunszain, J. Ghuman, A. F. McDonagh, S. Curry. – DOI 10.1016/j.jmb.2008.06.016 // *J. Mol. Biol.* – 2008. – № 2 (381). – P. 394–406.

60. D'Amico, G. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies / G. D'Amico, G. Garcia-Tsao, L. Pagliaro // *J. Hepatol.* – 2006. – № 44. – P. 217–231.

61. Determination of Effective Albumin in Patients With Decompensated Cirrhosis: Clinical and Prognostic Implications / M. Baldassarre, M. Naldi, G. Zaccherini [et al.] // *Hepatology*. – 2021.

62. Diagnosis, Evaluation, and Management of Ascites, Spontaneous Bacterial Peritonitis and Hepatorenal Syndrome: 2021 Practice Guidance by the American

Association for the Study of Liver Diseases / S. W. Biggins, P. Angeli, G. Garcia-Tsao [et al.] // *Hepatology*. – 2021. – № 74. – P. 1014.

63. Dynamics of albumin in plasma and ascitic fluid in patients with cirrhosis / J. H. Henriksen, O. Siemssen, J. J. Krintel, [et al.] – DOI 10.1016/s0168-8278(00)00009-x // *J. Hepatol.* – 2001. – № 1 (34). – P. 53–60.

64. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis / European Association for the Study of the Liver. // *J. Hepatol.* – 2018. – № 69. – P. 406–460.

65. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis / P. Sort, M. Navasa, V. Arroyo [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – № 341. – P. 403–409.

66. Effective albumin as a novel biomarker in the assessment of Child-Pugh liver cirrhosis / A. Turkina, M. Maevskaya, M. Zharkova, V. Ivashkin. – DOI 10.1002/ueg2.12140// *United European Gastroenterol. J.* – 2021. – Vol. 9 (S8). – P. 221. MP092.

67. Effects of Fenton Reaction on Human Serum Albumin: An In Vitro Study / M. Khosravifarsani, A. S. Monfared, M. Pouramir, E. Zabihi. – DOI 10.19082/2970 // *Electron Physician*. – 2016. – № 8 (9). – P. 2970–2976.

68. Electrochemical study of bovine serum albumin damage induced by Fenton reaction using tris (2,2-bipyridyl) cobalt (III) perchlorate as the electroactive indicator / Y. Wang, H. Xiong, Z. Xiuhua. – DOI 10.1016/j.electacta.2012.02.010 // *Electrochimica Acta*. – 2012. – № 67. – P. 147–151.

69. European Association for the Study of the Liver. EASL // Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy. – 2022. – Vol. 77, iss. 3. – P. 807–824.

70. Freitas, P. A. C. Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes / P. A. C. Freitas, L. R. Ehlert, J. L. Camargo. – DOI 10.1590/2359-3997000000272 // *Arch. Endocrinol. Metab.* – 2017. – № 3 (61). – P. 296–304.

71. Frequency of causes of ascites in patients admitted at medical unit of a tertiary medical care facility / M. A. Shaikh, J. Khan, S. Almani, D. Shaikh // *J. Ayub.*

Med. Coll. Abbottabad. – 2010. – № 22. – P. 88–92.

72. FRI-111-albumin modulates endosomal TLR9 signaling in human peripheral leukocytes: a mechanism for its anti-inflammatory role in ACLF / M. Casulleras, J. Alcaraz-Quiles, M. Duran-Güell [et al.]. – DOI 10.1016/s0618-8278(19)30856-4 // J. Hepatol. – 2019. – № 70. – P. e436.

73. Glucocorticoid-dependent expression of the albumin gene in adult rat hepatocytes / K. Nawa, T. Nakamura, A. Kumatori [et al.] // J. Biol. Chem. 1986. – № 36 (261). – P. 16883–16888.

74. Glycated albumin: from biochemistry and laboratory medicine to clinical practice / E. Dozio, N. Di Gaetano, P. Findeisen, M. M. Corsi Romanelli. – DOI 10.1007/s12020-016-1091-6 // Endocrine. – 2017. – № 3 (55). – P. 682–690.

75. Glycation of human serum albumin / J. Anguizola, R. Matsuda, O. S. Barnaby, [et al.] // Clinica. Chimica. Acta. – 2013. – № 425. – P. 64–76.

76. Gounden, V. Hypoalbuminemia. – 2021 / V. Gounden, R. Vashisht, I. Jialal // StatPearls [Internet]. – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.

77. Hemodynamic and Systemic Effects of Albumin in Patients with Advanced Liver Disease / M. Tufoni, M. Baldassarre, G. Zaccherini [et al.]. – DOI 10.1007/s11901-020-00521-1 // Curr. Hepatol. Rep. – 2020. – № 1-12.

78. Human nonmercaptalbumin-2: a novel prognostic marker in chronic liver failure / R. E. Stauber, W. Spindelboeck, J. Haas [et al.]. – DOI 10.1111/1744-9987.12024 // Ther. Apher. Dial. – 2014. – № 1 (18). – P. 74–78.

79. Human serum albumin is an essential component of the host defense mechanism against Clostridium difficile intoxication / A. Di Masi, L. Leboffe, F. Polticelli [et al.]. – DOI 10.1093/infdis/jiy338 // J. Infect Dis. – 2018. – № 218. – P. 1424–1435.

80. Human serum albumin: from bench to bedside / G. Fanali, A. Di Masi, V. Trezza [et al.] – DOI 10.1016/j.mam.2011.12.002// Mol. Asp. Med – 2012. – № 33. – P. 209–290.

81. Hyperglycemia induced structural and functional changes in human serum albumin of diabetic patients: a physico-chemical study / K. Neelofar, Z. Arif, K. Alam,

J. Ahmad. – DOI 10.1039/c6mb00324a // Mol. Biosyst. – 2016. – № 8 (12). – P. 2481–2489.

82. Infections complicating cirrhosis / S. Piano, A. Brocca, S. Mareso, P. Angeli // Liver Int. – 2018. – № 38. – P. 126–133.

83. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis / V. Arvaniti, G. D'Amico, G. Fede [et al.] // Gastroenterology – 2010. – № 139. – P. 1246–1256.e5.

84. Inflammatory effects of in vivo glycated albumin from cardiovascular patients. / B. Paradela-Dobarro, S. B. Bravo, A. Rozados-Luís [et al.]. – DOI 10.1016/j.biopha.2019.108763 // Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie. – 2019. – № 113. – P. 108763.

85. Influence of glycosylation on the drug binding of human serum albumin / K. Koizumi, C. Ikeda, M. Ito [et al.]. – DOI 10.1002/(SICI)1099-0801(199807/08)12:4<203::AID-BMC736>3.0.CO;2-L // Biomed. Chromatogr. – 1998. – № 4 (12). – P. 203–210.

86. Investigation into the interaction of recombinant human serum albumin with Re-lipopolysaccharide and lipid A / G. Jürgens, M. Müller, P. Garidel [et al.]. – DOI 10.1179/096805102125000263 // J Endotoxin Res. – 2002. – № 2 (8). – P. 115–126.

87. Ischaemia-modified albumin: a marker of bacterial infection in hospitalized patients with cirrhosis / F. A. Giannone, M. Domenicali, M. Baldassarre [et al.]. – DOI 10.1111/liv.12860 // Liver Int. – 2015. – № 11 (35). – P. 2425–2432.

88. KASL clinical practice guidelines for liver cirrhosis: Ascites and related complications / Korean Association for the Study of the Liver (KASL). – DOI 10.3350/cmh.2018.1005 // Clin. Mol. Hepatol. – 2018. – № 3 (24). – P. 230–277.

89. Kimball, S. R. Hormonal regulation of albumin gene expression in primary cultures of rat hepatocytes / S. R. Kimball, R. L. Horetsky, L. S. Jefferson. – DOI 10.1152/ajpendo.1995.268.1.E6 // Am. J. Physiol. – 1995. – № 1 (268) (1 Pt 1). – P. E6–14.

90. Komander, D. The emerging complexity of protein ubiquitination / D. Komander. – DOI 10.1042/BST0370937 // *Biochem. Soc Trans.* – 2009. – № 37 (Pt 5). – P. 937–953.

91. Kragh-Hansen, U. Practical aspects of the ligand-binding and enzymatic properties of human serum albumin / U. Kragh-Hansen, V. T. Chuang, M. Otagiri. – DOI 10.1248/bpb.25.695 // *Biol. Pharm. Bull.* – 2002. – № 25. – P. 695–704.

92. Long-term administration of human albumin improves survival in patients with cirrhosis and refractory ascites / M. Di Pascoli, S. Fasolato, S. Piano [et al.] // *Liver Int.* – 2019. – № 39. – P. 98–105.

93. Long-term albumin administration in decompensated cirrhosis (ANSWER): an open-label randomised trial / P. Caraceni, O. Riggio, P. Angeli [et al.] // *Lancet.* – 2018. – № 391 (10138). – P. 2417–2429.

94. Long-term albumin infusion improves survival in patients with cirrhosis and ascites: an unblinded randomized trial / R. G. Romanelli, G. La Villa, G. Barletta [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – № 12. – P. 1403–1407.

95. Long-term albumin infusion in decompensated cirrhosis: A review of current literature / Y. J. Wong, R. Kumar, Y. J. J. Chua, T. L. Ang. – PMID: 33959225 – DOI 10.4254/wjh.v13.i4.421 // *World J. Hepatol* – 2021. – № 4 (13). – P. 421–432.

96. Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: from peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis / M. Bernardi, R. Moreau, P. Angeli [et al.]. – DOI 10.1016/j.jhep.2015.07.004 // *J. Hepatol.* – 2015. – № 5 (63). – P. 1272–1284.

97. Meloun, B. Complete amino acid sequence of human serum albumin / B. Meloun, L. Morávek, V. Kostka. – DOI 10.1016/0014-5793(75)80242-0 // *FEBS Lett.* – 1975. – № 1 (58). – P. 134–137.

98. Midodrine and albumin for prevention of complications in patients with cirrhosis awaiting liver transplantation. A randomized placebo-controlled trial / E. Solà, C. Solé, M. Simón-Talero [et al.] // *J. Hepatol.* – 2018. – № 69. – P. 1250–1259.

99. Noradrenaline versus terlipressin in the management of type 1 hepatorenal syndrome: A randomized controlled study / R. U. Saif, H. A. Dar, S. M. Sofi [et al.] // *Indian J. Gastroenterol.* – 2018 Sep. – № 5 (37). – P. 424–429.

100. Okabe, N. Drug binding properties of glycosylated human serum albumin as measured by fluorescence and circular dichroism / N. Okabe, N. Hashizume. – DOI 10.1248/bpb.17.16 // *Biol. Pharm. Bull.* – 1994. – № 1 (17). – P. 16–21.

101. On-treatment serum albumin level can guide long-term treatment in patients with cirrhosis and uncomplicated ascites / P. Caraceni [et al.]. – DOI 10.1016/j.jhep.2020.08.021 // *J. Hepatol.* – 2021 Feb. – № 2 (74). – P. 340–349.

102. Oral branched-chain amino acid granules improve structure and function of human serum albumin in cirrhotic patients / H. Setoyama, M. Tanaka, K. Nagumo [et al.]. – DOI 10.1007/s00535-016-1281-2 // *J. Gastroenterol.* – 2017. – № 6 (52). – P. 754–765.

103. Overview of Albumin and Its Purification Methods / R. Raoufinia, A. Mota, N. Keyhanvar [et al.]. – DOI 10.15171/apb.2016.063 // *Adv. Pharm. Bull.* – 2016. – № 4 (6). – P. 495–507.

104. Oxidation of the albumin thiol to sulfenic acid and its implications in the intravascular compartment / L. Turell, S. Carballal, H. Botti [et al.]. – DOI 10.1590/s0100-879x2009000400001 // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2009 Apr. – № 4 (42). – P. 305–311.

105. Oxidized Albumin Triggers a Cytokine Storm in Leukocytes Through P38 Mitogen-Activated Protein Kinase: Role in Systemic Inflammation in Decompensated Cirrhosis / J. Alcaraz-Quiles, M. Casulleras, K. Oettl [et al.]. – DOI 10.1002/hep.30135 // *Hepatology.* – 2018. – № 68(5). – P. 1937–1952.

106. Pagel W. Paracelsus: an Introduction to philosophical medicine in the Era of the Renaissance Basel / W Pagel. – London : Karger, 1982. – P. 126–202.

107. Peters T. All about albumin / T. Peters. – Elsevier, 1995. – DOI 10.1016/B978-012552110-9/50004-0.

108. Peters T. J. All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications / T. J. Peters. – DOI 10.1002/food.19970410631. – San Diego : Academic Press, 1996.

109. Peters, T. J. Serum albumin / T. J. Peters. – DOI 10.1016/s0065-3233(08)60065-0 // Adv. Protein Chem. – 1985. – № 37. – P. 161–245.

110. Posttranscriptional changes of serum albumin: clinical and prognostic significance in hospitalized patients with cirrhosis / M. Domenicali, M. Baldassarre, F. A. Giannone [et al.]. – DOI 10.1002/hep.27322 // Hepatology. – 2014. – № 6 (60). – P. 1851–1860.

111. Practice guideline: management of adult patients with ascites due to cirrhosis: update 2012. / American Association for the Study of Liver Diseases. – 2013. – URL: https://www.aasld.org/sites/default/files/2019-06/AASLDPracticeGuidelineAsciteDuetoCirrhosisUpdate2012Edition4_.pdf (accessed: May 2020).

112. Prajapati, K. D. Current perspectives on potential role of albumin in neuroprotection / K. D. Prajapati, S. S. Sharma, N. Roy. – DOI 10.1515/RNS.2011.028 // Rev. Neurosci. – 2011. – № 22(3). – P. 355–363.

113. Protective effect of ferulic acid on ionizing radiation induced damage in bovine serum albumin / K. Mishra, H. Ojha, S. Kallepalli [et al.] // Int. J. Radiat. Res. – 2014. – № 2 (12). – P. 113–121.

114. Quinlan, G. J. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential / G. J. Quinlan, G. S. Martin, T. W. Evans. – DOI 10.1002/hep.20720 // Hepatology. – 2005. – № 41. – P. 1211–1219.

115. Rabbani, G. Structure, enzymatic activities, glycation and therapeutic potential of human serum albumin: A natural cargo / G. Rabbani, S. N. Ahn. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.053 // Biomac. – 2018.

116. Raghavet, A. Glycated serum albumin: A potential disease marker and an intermediate index of diabetes control / A. Raghavet, J. Ahmad // Diabetes Metabo. Syndr. – 2014. – № 4 (8). – P. 245–251.

117. Randomized controlled trial comparing lactulose plus albumin versus lactulose alone for treatment of hepatic encephalopathy / B. C. Sharma, J. Singh, S. Srivastava [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. Vol. 6 (32). – P. 1234–1239.

118. Randomized trial comparing albumin and saline in the prevention of paracentesis-induced circulatory dysfunction in cirrhotic patients with ascites / J. Sola-Vera, J. Miñana, E. Ricart [et al.] // *Hepatology.* – 2003. – № 37. – P. 1147–1153.

119. Rezaei, F. Effect of pH on Zero Valent Iron Performance in Heterogeneous Fenton and Fenton-Like Processes: A Review / F. Rezaei, D. Vione. – DOI 10.3390/molecules23123127 // *Molecules.* – 2018. – № 12 (23). – P. 3127.

120. Role of albumin in cirrhosis: from a hospitalist's perspective / S. Walayat, D. Martin, J. Patel [et al.]. – DOI 10.1080/20009666.2017.1302704 // *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect.* – 2017. – № 1 (7). – P. 8–14.

121. Runyon B. A. Ascites / B. A. Runyon // Schiff, L. *Diseases of the Liver* / L. Schiff, E. R. Schiff, editors. – 7th ed. – Philadelphia : Lippincott, 1993. – P. 990–1015.

122. Salerno, F. Albumin infusion improves outcomes of patients with spontaneous bacterial peritonitis: a meta-analysis of randomized trials / F. Salerno, R. J. Navickis, M. M. Wilkes // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2013. – № 11. – P. 123–130.e1.

123. Sen, S. The pathophysiological basis of acute-on-chronic liver failure / S. Sen, R. Williams, R. Jalan. – DOI 10.1034/j.1600-0676.2002.00001.x // *Liver.* – 2002. – № 22. – P. 5–13.

124. Simple and sensitive high-performance liquid chromatographic method for the investigation of dynamic changes in the redox state of rat serum albumin / T. Hayashi, K. Suda, H. Imai, S. Era. – DOI 10.1016/s1570-0232(02)00068-5 // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2002. – № 1 (772). – P. 139–146.

125. Specific antioxidant properties of human serum albumin / M. Taverna, A. L. Marie, J. P. Mira, B. Guidet. – DOI 10.1186/2110-5820-3-4 // *Ann. Intensive Care.* – 2013. – № 1 (3). – P. 4.

126. Structural insights into human serum albumin-mediated prostaglandin catalysis / J. Yang, C. E. Petersen, C. E. Ha, N. V. Bhagavan. – DOI 10.1110/ps.28702 // *Protein Sci.* – 2002. – № 11(3). – P. 538–545.

127. Sudlow, G. Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin / G. Sudlow, D. J. Birkett, D. N. Wade // *Mol. Pharmacol.* – 1976. – № 6 (12). – P. 1052–1061.

128. Terlipressin and albumin vs albumin in patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome: a randomized study / M. Martín-Llahí, M. N. Pépin, M. Guevara [et al.] ; TAHRS Investigators // *Gastroenterology.* – 2008 May. – № 5 (134). – P. 1352–1359.

129. Terlipressin plus albumin versus midodrine and octreotide plus albumin in the treatment of hepatorenal syndrome: A randomized trial / M. Cavallin, P. S. Kamath, M. Merli [et al.] ; Italian Association for the Study of the Liver Study Group on Hepatorenal Syndrome. // *Hepatology.* – 2015 Aug. – № 2 (62). – P. 567–574.

130. The antioxidant properties of serum albumin / M. Roche, P. Rondeau, N. R. Singh [et al.]. – DOI 10.1016/j.febslet.2008.04.057 // *FEBS Lett.* – 2008. – № 582. – P. 1783–1787.

131. The global, regional, and national burden of cirrhosis by cause in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / GBD 2017 Cirrhosis Collaborators // *Lancet gastroenterology & hepatology* – 2020. – Vol. 5, № 3. – P. 245–266.

132. Three-dimensional structure of human serum albumin / D. C. Carter, X. M. He, S. H. Munson, [et al.] – DOI 10.1126/science.2727704 // *Science.* – 1989. – № 244 (4909). – P. 1195–1198.

133. Treatment for hepatorenal syndrome in people with decompensated liver cirrhosis: a network meta-analysis / L. M. Best, S. C. Freeman, A. J. Sutton [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2019 Sep 12. – № 9. – P. CD013103.

134. Wada, Y. Potential Role of Amino Acid/Protein Nutrition and Exercise in Serum Albumin Redox State / Y. Wada, Y. Takeda, M. Kuwahata. – DOI 10.3390/nu10010017 // *Nutrients.* – 2017. – № 1 (10). – P. 17.

135. Wilkinson, P. The effect of repeated albumin infusions in patients with cirrhosis / P. Wilkinson, S. Sherlock // *Lancet*. – 1962. – № 2. – P. 1125–1129.

136. Zaccherini, G. Albumin Administration is Efficacious in the Management of Patients with Cirrhosis: A Systematic Review of the Literature / G. Zaccherini, M. Tufoni, M. Bernardi. – DOI 10.2147/HMER.S264231// *Hepat. Med.* – 2020. – № 12. – P. 153–172.

137. Zendjabil, M. Glycated albumin / M. Zendjabil. – DOI 10.1016/j.cca.2019.11.007 // *Clin. Chim. Acta.* – 2020. – № 502. – P. 240–244.